

# Nicht-invasive Diagnostik der Eisenbeladung bei Kindern und Jugendlichen nach Bluttransfusion

**Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades**  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

Vorgelegt von Georg Wilhelm Wurschi

geboren am 26.10.1994 in Weimar

**Gutachter**

- 1: Prof. Dr. Hans-Joachim Mentzel
- 2: Prof. Dr. James F. Beck
- 3: Prof. Dr. Diane Renz, Hannover

**Tag der öffentlichen Verteidigung:**

07. September 2020

*„Iucundi acti labores.“<sup>1</sup>*

---

<sup>1</sup>Marcus Tullius Cicero, De finibus II, 105

# Inhaltsverzeichnis

1	Abkürzungsverzeichnis	0
2	Zusammenfassung	1
2.1	Hintergrund . . . . .	1
2.2	Zielstellung . . . . .	1
2.3	Material und Methoden . . . . .	1
2.4	Ergebnisse . . . . .	1
2.4.1	MRT und Ferritin im Vergleich . . . . .	1
2.4.2	Scherwellen-Elastografie . . . . .	2
2.5	Diskussion . . . . .	2
2.6	Schlussfolgerungen . . . . .	2
3	Einleitung	3
3.1	Herleitung der Zielstellung . . . . .	3
3.1.1	Allgemeines zur Stammzelltransplantation (SZT) . . . . .	3
3.1.2	Eisenüberladung und Chelatoren . . . . .	4
3.2	Verwendete Methoden . . . . .	6
3.2.1	Relaxometrie in der Magnetresonanztomografie (MRT) . . . . .	6
3.2.2	Serum Ferritin (SF) . . . . .	11
3.2.3	Scherwellen-Elastografie (SWE) in der Sonografie . . . . .	12
4	Ziele und Arbeitshypothesen	15
5	Teilabschnitte der Promotionsarbeit	16
6	Vorbetrachtungen	17
6.1	Eisen in T2*-Sequenzen . . . . .	17
6.2	Anpassung der Sequenzparameter . . . . .	18
6.3	Übereinstimmung der Ergebnisse bei unterschiedlichen Sequenzparametern	20
7	Methodik	23
7.1	Patientengruppe . . . . .	23
7.2	Verwendete Methoden . . . . .	25
7.2.1	Erhobene Parameter . . . . .	25
7.2.2	MR-Relaxometrie . . . . .	26



7.2.3	Blutentnahmen und SF-Bestimmung . . . . .	26
7.2.4	Scherwellen-Elastografie (SWE) . . . . .	26
7.2.5	„HepScore“ . . . . .	28
7.3	Aufarbeitung der Messwerte . . . . .	28
7.4	Vergleich der Messmethoden (TEIL I) . . . . .	29
7.4.1	Kombination des „HepScores“ mit der Scherwellen-Elastografie . . .	29
7.5	Longitudinale Analysen nach Stammzelltransplantation (TEIL II) . . . . .	29
7.5.1	Maximale Eisenbeladung („IL“) . . . . .	30
7.5.2	<i>Ferritin / MR-Eisen</i> Quotient im Verlauf . . . . .	30
7.6	Statistische Auswertung . . . . .	31
8	Ergebnisse	<b>33</b>
8.1	Übersicht . . . . .	33
8.2	Vergleich der Messmethoden (TEIL I) . . . . .	33
8.2.1	MRT und SF im Vergleich . . . . .	33
8.2.2	Kombination der SWE mit dem „HepScore“ . . . . .	34
8.2.3	Verlaufsmessungen mittels SWE und MRT . . . . .	36
8.2.4	Einfluss von Komplikationen und Erkrankungen der Leber . . . . .	38
8.3	Longitudinale Analysen nach Stammzelltransplantation (TEIL II) . . . . .	38
8.3.1	Deskriptive Analysen . . . . .	38
8.3.2	Vergleich der drei Messzeitpunkte . . . . .	39
8.3.3	Einfluss von Entzündungsreaktionen im Verlauf . . . . .	44
8.4	T2*-Grenzwert für eine relevante Eisenüberladung (IO) . . . . .	44
9	Publizierte Originalarbeiten	<b>47</b>
9.1	Schriftliche Veröffentlichungen . . . . .	47
9.2	Kongressbeiträge . . . . .	47
10	Diskussion	<b>48</b>
10.1	MR-Relaxometrie . . . . .	48
10.1.1	Eisenmessung mittels T2*-Sequenzen . . . . .	48
10.1.2	Grenzwert für eine Eisenüberladung (IO) . . . . .	49
10.2	Serum Ferritin (SF) . . . . .	50
10.2.1	Einfluss von Entzündungsreaktionen . . . . .	50
10.2.2	Vergleich mit MR-Fe . . . . .	52
10.2.3	Auswirkung von Komplikationen der SZT auf SF . . . . .	52
10.3	Auswertung der Verlaufsmessungen . . . . .	53
10.4	Konsequenzen einer Eisenüberladung (IO) . . . . .	56
10.5	Scherwellen-Elastografie . . . . .	56
10.5.1	Kombination mit Serum-Parametern („HepScore“) . . . . .	58
10.5.2	Beeinflussung der SWE durch Komplikationen . . . . .	58
10.5.3	Weitere Einflussfaktoren . . . . .	59

10.6	Limitationen dieser Arbeit . . . . .	60
10.6.1	Allgemeine Limitationen . . . . .	60
10.6.2	Grenzen der MR-Relaxometrie . . . . .	61
10.6.3	Stellenwert von Serum Ferritin und MR-Relaxometrie im klinischen Alltag . . . . .	62
10.6.4	Einschränkungen in der Scherwellen-Elastografie . . . . .	62
10.7	Bewertung der Hypothesen . . . . .	63
11	Schlussfolgerungen	64
	Literaturverzeichnis	66
	Anhang	I
A	Wissenschaftliche Kooperationen	III
B	Schriftliche Veröffentlichungen	IV
C	Abstracts von Kongressbeiträgen	XXII
D	Referenzwerte	XXVII
E	Klassifikationen	XXX
E.1	„ <i>METAVIR</i> “-Klassifikation . . . . .	XXX
E.2	Einteilung der Graft-versus-host-disease (GvHD) nach <i>Glucksberg</i> . . . .	XXXI
F	Danksagung	XXXIII
G	Tabellarischer Lebenslauf	XXXIV
H	Eidesstattliche Erklärung	XXXV

# 1 Abkürzungsverzeichnis

## Wissenschaftliche Abkürzungen

<b>ALL</b>	Akute lymphatische Leukämie
<b>AML</b>	Akute myeloische Leukämie
<b>ARFI</b>	Acoustic-radiation-force-impulse Imaging
<b>AUC</b>	Area-under-the-curve (Gesamtfläche unter der ROC-Kurve)
<b>c</b>	Konzentration einer Substanz
<b>CF</b>	Cystische Fibrose
<b>CLL</b>	Chronisch lymphatische Leukämie
<b>CML</b>	Chronisch myeloische Leukämie
<b>CrP</b>	C-reaktives Protein in [mg/l]
<b>CT</b>	Computertomografie
<b>EK</b>	Erythrozytenkonzentrat
<b>eLIC</b>	„estimated Liver Iron Concentration“ (Eisenbeladung der Leber, abgeschätzt nach <i>Angelucci et al.</i> in $\left[\frac{\text{mg Fe}^{2+}}{\text{g}}\right]$ )
<b>FOV</b>	Field-of-view (Größe des Bildfeldes)
<b>GEE</b>	Generalized Estimating Equations (Verallgemeinerte Schätzgleichung)
<b>GRE</b>	Gradient-recalled-echo Sequenzen der MRT
<b>GvHD</b>	Graft-versus-host-disease
<b>HLH</b>	Hämophagozytische Lymphohistiozytose
<b>IL</b>	„Iron Load“ (Maximale Eisenbelastung des Organismus in $\left[\frac{\text{mg Fe}^{2+}}{\text{g}}\right]$ )
<b>IO</b>	„Iron Overload“ (Eisenüberladung, hier bei SF > 1000 µg/l)
<b>JMML</b>	Juvenile myelomonozytäre Leukämie

<b>KG</b>	Körpergewicht in [kg]
<b>KI</b>	Konfidenzintervall auf [95%]-Niveau
<b>KÖF</b>	Körperoberfläche in [%]
<b>LIC</b>	„Liver Iron Concentration“ (Eisenkonzentration der Leber) in $\left[ \frac{mg\ Fe^{2+}}{g} \right]$
<b>L/M</b>	Liver-Muscle-Ratio (Verhältnis des MR-Signals zwischen einem Messpunkt in der Leber und der Muskulatur)
<b>MDS</b>	Myelodysplastisches Syndrom
<b>MPS</b>	Mukopolysaccharidose
<b>MR-Fe</b>	MR-Eisenbeladung der Leber, abgeschätzt n. <i>Wood et al.</i> in $\left[ \frac{mg\ Fe^{2+}}{g} \right]$
<b>MRT</b>	Magnetresonanztomografie
<b>NAFLD</b>	Non-alcoholic Fatty Liver Disease
<b>ROC</b>	Receiver-operating-characteristic Diagramme
<b>ROI</b>	Region of Interest (Zielregion einer Messung)
<b>SE</b>	Spin-echo Sequenzen der MRT
<b>SWE</b>	Scherwellen-Elastografie („shear wave elastography“)
<b>SD</b>	Standardabweichung („standard deviation“)
<b>SF</b>	Serum Ferritin in [ $\mu g/l$ ]
<b>SIR</b>	Signal-intensity-ratio (Signal-Intensitäts-Verhältnis; bspw. von Leber zu Muskelgewebe in der MRT)
<b>SP</b>	Sequenzparameter
<b>SQUID</b>	Superconducting-quantum-interference-device
<b>SZT</b>	Stammzelltransplantation
<b>TE</b>	Echozeit („Time of Echo“) in [ms]
<b>TR</b>	Repetitionszeit („Time of Repetition“) in [ms]
<b>T2*</b>	T2*-Relaxationszeit in der MRT in [ms]
<b>UKJ</b>	Universitätsklinikum Jena
<b>VAL</b>	vordere Axillarlinie
<b>VOD</b>	Veno-occlusive-disease (oder „ <i>Hepatic-sinusoidal-obstruction-syndrome</i> “)

# Allgemeine Abkürzungen

**Abb.** Abbildung

**bspw.** beispielsweise

**bzw.** beziehungsweise

**ca.** circa

**evtl.** eventuell

**ggf.** gegebenenfalls

**J.** Jahre

**o.g.** oben genannt

**Pkt.** Punkte

**s.** siehe [Referenz]

**S.** Seite

**sog.** sogenannte (-e/-es)

**Tbl.** Tabelle

**teilw.** teilweise

**u.a.** unter anderem

**u.U.** unter Umständen

**v.a.** vor allem

**vgl.** vergleiche mit [Referenz]

**vs.** versus

**z.B.** zum Beispiel

**z.T.** zum Teil

# 2 Zusammenfassung

## 2.1 Hintergrund

Bei der Behandlung hämatologisch-onkologischer Erkrankungen im Kindesalter und insbesondere bei Stammzelltransplantationen sind häufig Bluttransfusionen nötig, die zu einer Akkumulation von Eisen im Körper führen. Durch eine chronische Eisenüberladung, „*Iron Overload*“ (IO), können dauerhafte Organschäden wie bspw. die Fibrosierung der Leber resultieren. Nicht-invasive Überwachungen der Lebereisenbeladung und Früherkennung einer Fibrosierung als Alternative zur invasiven Leberbiopsie sind für Kinder und Jugendliche wünschenswert.

## 2.2 Zielstellung

Bei Kindern und Jugendlichen sollte die Möglichkeit der nicht-invasiven, quantitativen Beurteilung des Leberparenchyms nach einer SZT untersucht werden. Ziel war die Quantifizierung der Lebereisenkonzentration (LIC) infolge von Bluttransfusionen durch die MRT und die Erfassung der Lebersteifigkeit durch die sonographisch gestützte SWE. Die Dynamik von Eisenbeladung und Steifigkeit sollten über den Zeitraum von einem Jahr mit klinischem Verlauf und Labordaten korreliert werden.

Die MR-Relaxometrie sollte mit dem parallel bestimmten SF für Eisenmessungen in der Leber verglichen werden. Der Fokus lag unter anderem auf Einflüssen von Immunreaktionen nach der SZT auf die MRT sowie SF. Bei der SWE hingegen stand die Beurteilung von Leberparenchym-Veränderungen durch Eisen im Vordergrund.

## 2.3 Material und Methoden

Es wurden 58 Patienten retrospektiv nach einer SZT untersucht (mittleres Lebensalter: 9,63 Jahre  $\pm$  6,2 Jahre Standardabweichung); 23 dieser Patienten wurden prospektiv im Verlauf nachverfolgt. Die Untersuchungen wurden vor sowie nach der SZT an Tag 100 und 365 in der MRT („*Magnetom Avanto*“, Siemens Healthineers mit 1,5 T) und der Sonografie (*iU22*, Philips, C5-1 MHz Schallkopf) durchgeführt.

Nach *Ong et al.* wurde SF größer als 1000  $\mu\text{g/l}$  als Schwelle für eine starke IO angesetzt (*Ong et al.* 2016). Die LIC wurde nach *Wood et al.* aus T2\*-Zeiten der MR-Relaxometrie berechnet (im Weiteren „MR-Fe“) und mit SF verglichen. Für die SWE wurde eine Steifigkeit  $> 5,5$  kPa als erhöht angenommen (*Fiege et al.* 2015).

Zur Beurteilung der Leberfunktion wurde aus etablierten Blutparametern (AP, Bilirubin, ChE, CrP,  $\gamma$  GT, GOT, GPT)<sup>1</sup> ein qualitativer Score („HepScore“) entwickelt. Dieser sollte insbesondere zur Unterstützung der Diagnose von Parenchymschäden der Leber in der SWE dienen.

## 2.4 Ergebnisse

### 2.4.1 MRT und Ferritin im Vergleich

In zeitgleichen Verlaufsmessungen bei 23 Patienten zeigte sich nach zahlreichen Transfusionen 100 Tage nach der SZT eine höhere LIC (höheres MR-Fe), die nach einem Jahr

---

<sup>1</sup>Abkürzungen: AP - Alkalische Phosphatase; ChE - Cholinesterase; CrP - C-reaktives Protein;  $\gamma$ GT -  $\gamma$ -Glutamyltransferase; GOT - Glutamat-Oxalacetat-Transaminase; GPT - Glutamat-Pyruvat-Transaminase

rückläufig war. Zwischen der Transplantation und Tag 100 war SF am höchsten und sank danach. Die erhöhten SF-Messungen waren zeitlich meist mit einem hohen CrP oder Komplikationen, wie Infektionen oder GvHD, assoziiert. Eine Gruppierung von MR-Fe nach erhöhtem CrP ( $> 7,5$  mg/l) und normalem CrP ergab keine signifikanten Unterschiede ( $p = 0,48$ ). Entzündungsbedingte Einflüsse auf MR-Fe waren daher nicht anzunehmen. Abseits von starken Immunreaktionen bestand zwischen MR-Fe und SF eine vergleichbare Genauigkeit in der qualitativen Diagnose einer IO. T2\*-Zeiten  $< 5,59$  ms entsprachen der Schwelle von SF  $> 1000$   $\mu\text{g/l}$  (Sensitivität = 96%; Spezifität = 83%).

## 2.4.2 Scherwellen-Elastografie

Nach der SZT wurde mit der SWE zum Tag 100 häufig eine erhöhte Steifigkeit der Leber ( $> 5,5$  kPa) ermittelt, die sich zum Tag 365 normalisierte. Zur MR-Fe oder SF bestand keine signifikante Korrelation. ROC-Analysen mit dem „HepScore“ zeigten eine gute Übereinstimmung. Ein „HepScore“ von  $> 5$  Punkten entsprach hier am besten der Grenze der SWE bei 5,5 kPa (Sensitivität = 67%, Spezifität = 68%). Umbauprozesse des Parenchyms scheinen daher mit einer gestörten Leberfunktion einherzugehen.

## 2.5 Diskussion

Die LIC lässt sich mittels T2\*-Relaxationszeiten abschätzen. Sie zeigt im Gegensatz zu SF keine signifikante Abhängigkeit von Entzündungsreaktionen. Starke Immunreaktionen führen direkt nach der SZT zu kurzfristigen Anstiegen von SF, die weder mit erneuten Transfusionen noch mit einem hohen MR-Fe korrelieren. Während der ersten 100 Tage nach SZT ist eine Abschätzung des genauen Eisenhaushaltes mit SF nicht verlässlich. Abseits davon sind SF und MR-Fe in der Diagnostik einer Eisenüberladung gleichwertig. Die routinemäßige SF-Bestimmung wird sich im klinischen Alltag aus ökonomischen und logistischen Gründen durch MR-Fe nicht ersetzen lassen. Im Rahmen von regulären MRT Verlaufskontrollen nach der SZT lässt sich die MR-Relaxometrie zur Abschätzung der LIC einfach durchführen.

Die im Verlauf rückläufigen Parameter deuten auf eine (partielle) Elimination von Eisen oder eine mögliche Regeneration des Leberparenchyms hin.

Die SWE ist zwar sensitiv für Umbauprozesse bis zur Fibrosierung, jedoch unspezifisch hinsichtlich der Ursache. Bei normwertiger Elastizität des Gewebes sind in Kombination mit unauffälligen „HepScore“-Werten Schäden des Parenchyms unwahrscheinlich.

Eine histologische Sicherung der LIC mittels Biopsie war aufgrund der Invasivität und Komplikationsgefahr bei den transplantierten Patienten nicht möglich, was eine bedeutende Limitation der Arbeit ist.

## 2.6 Schlussfolgerungen

Mittels T2\* und SF lässt sich eine IO abseits von Entzündungen gleichermaßen diagnostizieren. Die MR-gestützte Bestimmung der LIC zeigt im Gegensatz zu SF keine Abhängigkeit von Immunreaktionen, ist jedoch teurer und aufwändiger zu realisieren.

Die SWE eignet sich zum Ausschluss von Folgeschäden in der Leber (z.B. einer Fibrose), unterstützend dazu kann der „HepScore“ ermittelt werden.

# 3 Einleitung

## 3.1 Herleitung der Zielstellung

### 3.1.1 Allgemeines zur Stammzelltransplantation (SZT)

Für Kinder mit hämatologisch-onkologischen Erkrankungen stellt eine Stammzelltransplantation (SZT) häufig die einzige kausale Therapiemöglichkeit dar (Imbach et al. 2014). Es wird prinzipiell zwischen autologer und allogener Transplantation unterschieden. Bei der allogenen SZT werden Stammzellen eines Fremdspenders mit unterschiedlichem Grad der Übereinstimmung der HLA-Merkmale übertragen, bei der autologen SZT wird hingegen eine Re-Transfusion der eigenen hämatopoetischen Stammzellen durchgeführt. Die Stammzellen werden entweder über eine Knochenmarkpunktion, durch Apherese peripherer Blutstammzellen oder aus Nabelschnurblut gewonnen. Nach der sog. „Konditionierung“, einer intensiven Zytostatikatherapie oder in Kombination mit einer Ganzkörperbestrahlung, erfolgt die Übertragung der Stammzellen, um die Knochenmarksfunktion wiederherzustellen. Der Transplantation selbst schließt sich eine kritische Phase der Aplasie<sup>1</sup> an, die bis zu drei Wochen andauert (Speer et al. 2019). Neben den toxischen Auswirkungen der Konditionierung kann es während der Aplasie vor allem zu opportunistischen Infektionen, Graft-versus-host-disease (GvHD) oder Transplantatabstoßung kommen (Kohgo et al. 2008, Herold 2012, Ruscitti et al. 2017, Speer et al. 2019). Die GvHD ist eine schädliche Reaktion der T-Lymphozyten des Spenders mit Geweben des Empfängers (Haut, Darm, Leber). Es wird eine akute Form (innerhalb der ersten 100 Tage nach SZT) von einer chronischen Form (späteres Auftreten als nach 100 Tagen) unterschieden (Herold 2012). Eine weitere, relevante Komplikation stellt die Veno-occlusive-disease (VOD) dar. Dabei kommt es zum Verschluss hepatischer Venen, der zu einer Hepatomegalie, Aszites oder einem Ikterus führen kann (Herold 2012, Speer et al. 2019). Das Risiko eines Rezidivs der Grunderkrankung ist innerhalb des ersten Jahres nach der Transplantation besonders hoch, da sich in dieser Zeit erst langsam eine neue Immunkompetenz entwickelt (Speer et al. 2019).

Die SZT bedeutet einen komplexen und schwerwiegenden Eingriff. Beispielsweise liegt bei Transplantationen aufgrund einer Akuten myeloischen Leukämien (AML) die 10-Jahres-Überlebensrate in der ersten Remission bei nur ca. 50% (Imbach et al. 2014). Die 5 Jahres Überlebensrate ist für Kinder mit einer Akuten lymphatischen Leukämie (ALL) mittler-

---

<sup>1</sup>Definition anhand einer Leukozytenzahl  $< 1000 / \mu\text{l}$  bzw. einer Granulozytenzahl  $< 500 / \mu\text{l}$  im peripheren Blut (Speer et al. 2019).



---

weile auf deutlich über 80 % gestiegen (Hunger et al. 2012, Imbach et al. 2014, Merli et al. 2019). Allerdings werden Hochrisiko-Patienten oder Patienten mit Rezidiven in der Regel stammzelltransplantiert und haben eine deutlich schlechtere Prognose von 50 bis maximal 60 % (Fagioli et al. 2013, Merli et al. 2019).

Weitere hämatologisch-onkologische Indikationen zur SZT sind im Kindesalter bspw. die Chronisch myeloische Leukämie (CML), der Morbus Hodgkin oder Myelo-dysplastische Syndrome (MDS). Bei den zuerst genannten wird jedoch nur bei mangelndem Ansprechen auf die standardmäßige Therapie (CML) oder bei Rezidiven (Morbus Hodgkin) transplantiert. Beim MDS ist das Ansprechen jedoch selbst auf eine hochdosierte Chemotherapie häufig so gering, dass die Heilungschancen mittels SZT trotz der möglichen Komplikationen immer noch besser sind (Speer et al. 2019). Das Langzeitüberleben wird bei transplantierten Kindern mit einem MDS bei ca. 40 % angesetzt (Imbach et al. 2014). Einige solide Tumore, wie Medulloblastome, Ewing-Sarkome oder Neuroblastome<sup>2</sup> profitieren von einer autologen SZT, da so eine höhere Dosis der vorangehenden Chemotherapie möglich ist (Imbach et al. 2014, Speer et al. 2019).

### 3.1.2 Eisenüberladung und Chelatoren

Im Rahmen der SZT sind regelmäßig wiederholte Bluttransfusionen nötig, um den Verlust der Knochenmarksfunktion während der Aplasie oder auch im Vorfeld bei bestimmten Grunderkrankungen zu kompensieren. Jedes Erythrozytenkonzentrat (EK) von etwa 250 ml führt dem Körper ca. 200 mg elementares Eisen ( $\text{Fe}^{2+}$ ) zu. Dies ist ein Vielfaches des täglichen Bedarfes, der bei ca. 2 mg pro Tag liegt (Kohgo et al. 2008, Quinn und St. Pierre 2016). Überschüssiges Eisen akkumuliert und kann zur „Eisenüberladung“ des Organismus, führen, da es keine aktiven Eliminationswege für das Eisen gibt. Es wird zwischen einer primären Eisenüberladung durch eine erhöhte Absorption im oberen Dünndarm (wie im Rahmen einer Hämochromatose), oder der sekundären Form, bedingt durch eine erhöhte exogene Zufuhr (z.B. Bluttransfusionen), unterschieden.

Die Ansammlung des Eisens erfolgt vor allem in Herz und Leber - aber auch in endokrinen Organen, Drüsen- und Nervengewebe (Argyropoulou et al. 2007). Zellschäden bis hin zum Funktionsverlust können durch die Bildung von Radikalen die Folge sein. Diese entstehen bei der Reduktion freier  $\text{Fe}^{3+}$ -Ionen zu ihrer zweiwertigen Form, die eine Bildung von Hydroxyl-Radikalen ( $\text{OH}^-$ ) aus Wasserstoffperoxid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) oder Superoxid ( $\text{O}^{2-}$ ) als Nebenreaktion katalysieren kann. Diese freien Radikale bedeuten einen oxidativen Stress und können beispielsweise Zellschäden durch Fettsäureoxidation oder DNA-Strangbrüche bewirken (Porter et al. 2015, Knovich et al. 2009).

Eine chronische Eisenüberladung wird auch als „Siderose“ bezeichnet und kann zu zahlreichen Komplikationen führen. Dazu zählen vor allem die progressive Beeinträchtigung von Leber- bzw. Herzfunktion. Weitere Folgen, wie Gelenkbeschwerden, neurologische oder endokrine Komplikationen bis hin zur Pankreasinsuffizienz sowie eine dermale Hy-

---

<sup>2</sup>im Stadium IV

---

perpigmentation sind möglich (Kohgo et al. 2008, Milic et al. 2016). Neben den benannten oxidativen Prozessen spielt vor allem auch die Ablagerung von Hämosiderin in gewebsständigen Makrophagen eine Rolle. Eine hohe Belastung mit Eisen führt meist auch zu einer erhöhten Eisenkonzentration der Leber, „*Liver Iron Concentration*“ (*LIC*), die potenziell schädlich für das Parenchym ist (Argyropoulou et al. 2007, Milic et al. 2016). Eine Schädigung des Leberparenchyms kann sich langfristig in einer Fibrosierung mit Funktionsverlust und zirrhotischem Umbau und dessen Komplikationen zeigen (Argyropoulou et al. 2007). Bei Kindern fallen diese langfristigen Spätfolgen in der Leber aufgrund ihrer langen Lebenserwartung besonders ins Gewicht. Zudem können die Störungen der endokrinen Drüsen durch die Eisenablagerungen massive Folgen in der Entwicklung der Kinder haben. Zum Beispiel sind Defizite an Wachstums- oder Sexualhormonen als transfusionsbedingte Schäden an der Hypophyse beschrieben (Kornreich et al. 1997, Porter et al. 2015).

Eine Intervention kann neben dem altbekannten Aderlass z.B. auch durch die Gabe eines Chelators erfolgen. Die Indikation hierfür sollte jedoch gut begründet sein, da ein nicht unerhebliches Nebenwirkungsprofil bekannt ist: Mit Deferasirox (*Exjade*®) ist zwar mittlerweile eine orale Verabreichung eines Chelators möglich. Es führt jedoch häufig zu starken gastro-intestinalen Nebenwirkungen und kann aufgrund der Hepatotoxizität schlimmstenfalls ein Leberversagen auslösen (Rote Liste® 2017). Alternative Substanzen, wie Deferoxamin (*Desferal*®) sind zwar weniger hepatotoxisch, können aber nicht oral appliziert werden und belasten die Patienten durch eine langwierige intravenöse Verabreichung zusätzlich. Die unerwünschten Nebenwirkungen sind auch hier nicht zu vernachlässigen. Bei Kindern ist z.B. das Risiko von Wachstumsverzögerung und Knochendysplasien präsent (Rote Liste® 2017). Das weiterhin für die orale Applikation verfügbare Deferiprone (*Ferriprox*®) ist in Deutschland nur für die Behandlung einer Thalassämie zugelassen, die mit den zuvor beschriebenen Chelatoren nicht erfolgreich therapiert werden konnte (Rote Liste® 2017). Das Nebenwirkungsprofil ist aufgrund der häufig auftretenden Agranulozytose ungünstig für Patienten mit Erkrankungen des blutbildenden Systems (Porter et al. 2015). Der tatsächliche therapeutische Nutzen der Chelatoren wird insgesamt kritisch beurteilt (Leitch und Vickars 2009, Coates und Wood 2017). Sie werden daher nach einer SZT bei Kindern nicht routinemäßig verabreicht.

Die exakte Diagnose und Einstufung einer relevanten Eisenüberladung, sog. „*Iron Overload*“ (*IO*), ist für das Abwägen zwischen den drohenden Langzeitschäden durch Eisen und der Toxizität der Chelatoren von Bedeutung. Im klinischen Alltag wird zur Abschätzung des Eisenhaushaltes standardmäßig auf die Bestimmung von Serum Ferritin (SF)-Spiegeln zurückgegriffen. SF ist allerdings aufgrund seiner vielfältigen Beeinflussung durch äußere Faktoren zur alleinigen Indikationsstellung einer Chelat-Therapie nicht zu empfehlen (Ong et al. 2016). Die exakte histologische Sicherung einer Eisenüberladung kann mittels Biopsie erfolgen, sie ist bei Kindern aufgrund der möglichen Komplikationen und Belastungen

---

des invasiven Eingriffs zu vermeiden. Insbesondere sind häufige, routinemäßige Verlaufskontrollen mittels Biopsie nicht möglich.

Eine alternative, nicht-invasive Bestimmung der Eisenkonzentration, die mehr Sicherheit bei der Indikation einer Chelat-Therapie bringen würde, ist daher von wesentlichem, klinischen Interesse. In der Erwachsenenmedizin sind in der MRT sog. „*Relaxometrie*“-Messungen zur Bestimmung von Eisenkonzentrationen etabliert. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, diese Technik bei Kindern und Jugendlichen nach einer SZT zur Abschätzung der Eisenbeladung der Leber zu untersuchen. Mit der Ultraschall Scherwellen-Elastografie (SWE) sollte ein weiteres modernes, nicht-invasives radiologisches Verfahren zur Beurteilung von Parenchymveränderungen der Leber evaluiert werden.

## 3.2 Verwendete Methoden

### 3.2.1 Relaxometrie in der Magnetresonanztomografie (MRT)

Die Magnetresonanztomografie (MRT) ist eine Technik der Schnittbildgebung, die Bilder des menschlichen Organismus mit einem sehr guten Weichteilkontrast ermöglicht. In der Kinderradiologie wird die MRT gegenüber der Computertomografie (CT) aufgrund der fehlenden Strahlenexposition bevorzugt. Die Technik beruht auf der orts aufgelösten Darstellung von gewebeabhängig unterschiedlichen Signalstärken, die sich aus Magnetisierungs- und nachfolgenden Relaxationsprozessen aufzeichnen lassen.

Protonen machen im menschlichen Körper durch den hohen Wassergehalt den Großteil der magnetisch angeregten Moleküle aus (Kahl-Scholz und Vockelmann 2017). Das im Häm-Komplex enthaltene Eisen lässt sich dank seiner paramagnetischen Effekte mit der MR-Relaxometrie messen (Quinn und St. Pierre 2016). Komplexe mit Eisenionen interagieren dabei mit angrenzenden Protonen und führen zu einem schnelleren Verlust der transversalen Magnetisierung (Argyropoulou et al. 2007, Chavhan et al. 2009). Sie bewirken damit einen lokalen Abfall der Signalstärke, der sich in T2- oder T2\*-Messungen quantifizieren und darstellen lässt.

Der Signalverlust stellt zunächst die T2-Relaxation dar. Die T2-Zeit entspricht der Zeit, bei der nur noch 37 % der ursprünglichen Signalstärke vorliegen (Kahl-Scholz und Vockelmann 2017). Die einheitliche Ausrichtung der „Spins“ der einzelnen Atome beträgt dann nur noch 37 % des Ausgangswertes und ist abhängig von der molekularen Zusammensetzung des jeweiligen Gewebes, da die unterschiedlichen Elemente eine unterschiedliche *Lamorfrequenz*<sup>3</sup> aufweisen (Kahl-Scholz und Vockelmann 2017). Eine höhere Konzentration an Eisenionen bewirkt einen stärkeren Signalverlust aufgrund von sog. „*Spin-Spin-Wechselwirkungen*“. In einer T2-Sequenz werden Dephasierungen von Eisenionen durch einen Refokussierungspuls ausgeglichen, in der T2\*-Sequenz hingegen nicht. Die T2\*-Zeit setzt sich damit aus der T2-Zeit sowie dem zusätzlichen Signalabfall, der durch derartige Wechselwirkungen bzw. Feldinhomogenitäten entsteht, zusammen. T2\*-Sequenzen bieten

---

<sup>3</sup>Entspricht der Frequenz  $\omega$  der Präzession des Spins eines Teilchens im Magnetfeld (in [1/s]).

---

sich für die Eisenbestimmung an, da über diesen zusätzlichen Signalabfall Rückschlüsse auf die Eisenkonzentration gezogen werden können. In den Vorbetrachtungen (Kapitel 6.1) erfolgt eine detaillierte Beschreibung und Herleitung zur Anwendung der Sequenzen.

### Technische Aspekte

Prinzipiell werden bei den Messungen *Spin-echo (SE)*- und *Gradient-recalled-echo (GRE)*-Methoden unterschieden. In *GRE*-Sequenzen sind durch die Verwendung von nur einem Anregungspuls kürzere Echozeiten (TE) und Repetitionszeiten (TR) möglich, sodass diese Methode gegenüber der *SE*-Methode weniger anfällig für Bewegungsartefakte ist (Schönnagel et al. 2013).

Im Gegensatz zu *SE*-Sequenzen, wie bei den T2-Methoden, wird dort kein 180° Refokussierungspuls zum Ausgleich der Dephasierung von Feldinhomogenitäten verwendet. So wird in der T2\* GRE-Sequenz bei der transversalen Relaxierung zusätzlich die Dephasierungen durch Magnetfeldinhomogenitäten bzw. Suszeptibilitätsveränderungen gemessen (Chavhan et al. 2009). Eine höhere LIC bewirkt durch die größeren Suszeptibilitätsveränderungen einen stärkeren Signalabfall und damit eine verkürzte T2\*-Relaxationszeit<sup>4</sup>. In T2\*-gewichteten Darstellungen führt dies typischerweise bei steigender Echozeit (TE) zu einer zunehmend hypo-intensen Darstellung, wie es in Abb. 3.1 deutlich wird (Chavhan et al. 2009). Die Sensitivität der Bestimmung von Eisen lässt sich daher durch die Verwendung von T2\*-Sequenzen steigern (Schönnagel et al. 2013).

Das T2\*-Signal wird bei hoher Eisenbeladung der Leber zwar von den Eisenionen dominiert, jedoch ist diese *GRE*-Sequenz auch anfälliger für Magnetfeldschwankungen (z.B. in der Nähe von Gewebegrenzen) als die *SE*-Sequenz (Schönnagel et al. 2013).

### Überblick über die etablierten Methoden

Es werden Verfahren zur Bestimmung einer Signal-intensity-ratio (SIR) zwischen Regions of Interest (ROIs) der Leber und bspw. Muskulatur als Referenz (sog. „*Liver-Muscle (L/M)-Ratio*“) - oder aber die Relaxometrie eingesetzt. In der MR-Relaxometrie lässt sich durch die Verwendung von verschiedenen Sequenzen bzw. Wichtungen eine Abschätzung der LIC vornehmen. Dabei werden mehrere T2 oder T2\*-Zeiten in einer parametrischen Karte für einen bestimmten untersuchten Abschnitt des Lebergewebes analysiert (Chavhan et al. 2009). SIR-Methoden haben den wesentlichen Vorteil einer kürzeren Akquisitionszeit, allerdings wird auch die Genauigkeit der Messung negativ beeinflusst (St Pierre et al. 2005, Chavhan et al. 2009). Im Gegensatz zur Relaxometrie sind die Suszeptibilitätsartefakte bei der *SIR*-Methode gering (Schönnagel et al. 2013). Es ergibt sich allerdings das Problem, dass die gleichzeitige Erfassung sehr hoher und sehr niedriger Eisenspiegel mit einer einzelnen Sequenz nicht möglich ist (Vag 2013).

*Gandon et al.* setzten daher ein Protokoll ein, das auf mehreren Sequenzen beruht, und konnten eine gute Korrelation zur bioptisch gesicherten LIC feststellen (Gandon et al.

---

<sup>4</sup>siehe auch S. 17 zur Herleitung der T2\*-Zeit.

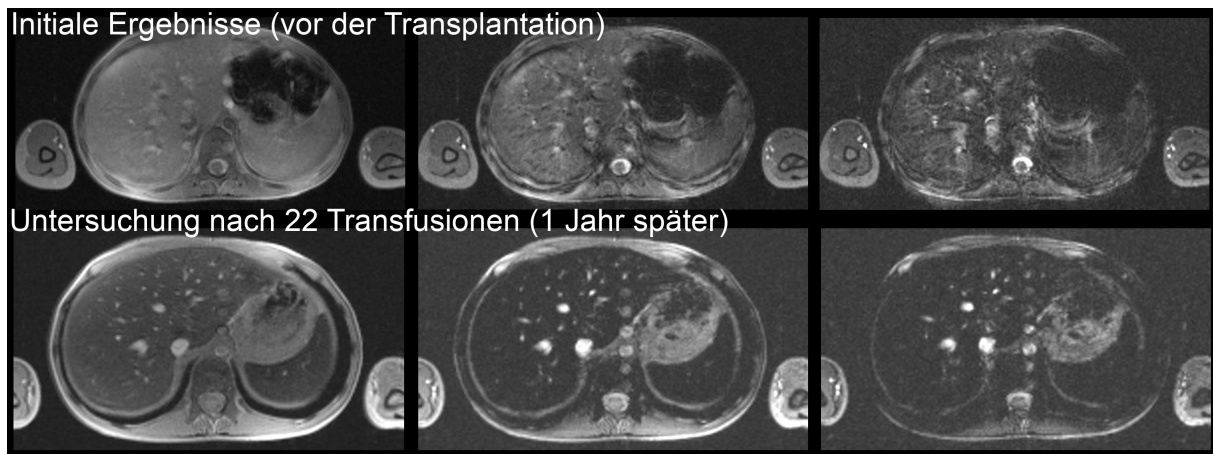


Abb. 3.1 Axiale Abdomen-MRT (T2\*-gewichtete GRE-Sequenz) von einem Jungen (initial 7 Jahre) vor der SZT (obere Reihe) sowie nach einem Jahr (untere Reihe). Es zeigt sich eine stark verkürzte T2\*-Zeit (18,8 ms oberere Reihe vs. 5,6 ms untere Reihe) sowie ein stark hypointenses Leberparenchym nach 22 Bluttransfusionen in der zweiten Messung aufgrund des schnelleren Signalzerfalls bei höherer Eisenbeladung (untere Reihe).

2004). International findet dieses Protokoll häufig Beachtung<sup>5</sup> und diente als Grundlage für weitere Studien. Es ist jedoch in seiner Verwendbarkeit für sehr hohe Eisenkonzentrationen eingeschränkt (Rose et al. 2006). Die Akquisitionszeiten von häufig über einer Minute sind zwar kürzer als bei *SE*-Sequenzen, können bei unruhigen Patienten aber bereits problematisch für die Bildqualität sein (Schönnagel et al. 2013, Vag 2013).

Eine frühere Arbeit unseres Institutes hat bei Kindern mit Akuter lymphatischer Leukämie (ALL) in der MRT bereits eine positive Korrelation von transfundierter Eisenmenge und L/M-SIR sowie SF zeigen können (Vag 2013).

Die MR-Relaxometrie hat sich als exakte Möglichkeit zur nicht-invasiven Bestimmung der LIC erwiesen. Von *St Pierre et al.* wurde eine auf  $R2^6$  basierende Methode beschrieben und ist mittlerweile, als *Ferriscan*<sup>®</sup> kommerziell vermarktet, weltweit anzutreffen.

Die T2\*-Relaxometrie ist erstmals von *Anderson et al.* beschrieben worden und wurde seitdem vielfach adaptiert. Sehr kurze Echozeiten (TE) sind mittlerweile möglich. Dank kurzer Akquisitionszeiten können die Aufnahmen mit Atemhaltekommando erfolgen, wodurch sich Artefakte reduzieren und die Messgenauigkeit steigern lassen (Anderson et al. 2001, St Pierre et al. 2005). Insbesondere im Kindesalter sind kurze Akquisitionszeiten mit Atemhaltekommando von Vorteil. In vielen Arbeitsgruppen werden dafür bevorzugt GRE T2\*-Sequenzen verwendet (Schönnagel et al. 2013, Paisant et al. 2017). Es konnte gezeigt werden, dass T2 bzw. T2\*-gewichtete Sequenzen sensitiver für Eisenmessungen als T1-gewichtete Sequenzen sind (Gandon et al. 2004). Die T2\*-Relaxometrie ist im Vergleich zur T2-Relaxometrie schneller und sensitiver für eine geringere LIC (Argyropoulou und Astrakas 2007, Chavhan et al. 2009). Dort sind längere TE möglich, sodass

<sup>5</sup>Entsprechend des Heimatsortes der Forschungsgruppe auch als sog. „Rennes-Methode“ bekannt.

<sup>6</sup>Die Relaxationsrate  $R2$  entspricht dem reziproken T2:  $T2 = \frac{1}{R2}$

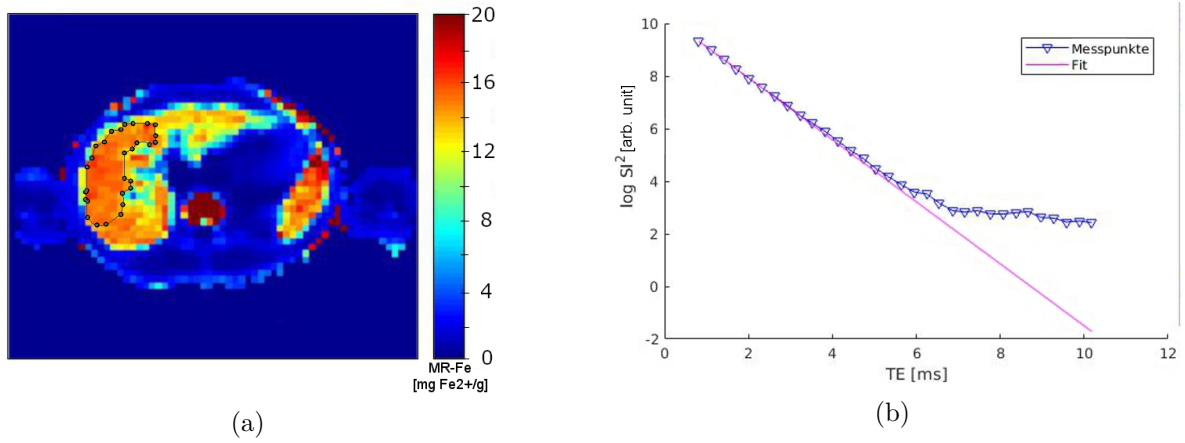


Abb. 3.2 Beispielhafte Auswertung einer MR-Relaxometrie: Abb. 3.2 (a) Voxelweise Darstellung einer axialen Übersichtskarte der T2\*-Relaxometrie der Leber mit eingezeichneter Region of Interest (ROI) (Farbcodierung entsprechend der berechneten Eisenkonzentration in  $\left[\frac{\text{mg Fe}^{2+}}{\text{g}}\right]$ ); Abb. 3.2 (b) Auswertung des Signalzerfalls in dieser ROI, der einer exponentiellen Funktion im optimierten Wertebereich (hier bis ca. 6 ms) folgt. Die Signalintensität („SI“, in relativen Einheiten / „arbitrary units“) wird, quadriert und zur anschaulicheren Darstellung logarithmisch skaliert, im Verhältnis zur Echozeit (TE, in [ms]) aufgetragen. Es ergibt sich das Bild eines linearen Zusammenhangs zwischen der logarithmierten  $SI^2$  und der Echozeit. Dieses Verhältnis lässt sich auch aus der Gleichung (3.1) ableiten. Die ermittelte T2\*-Zeit von 1,7 ms liegt im für diese Sequenz („TR-min“, siehe Tabelle 6.1) optimierten Wertebereich und ergibt eine Eisenbeladung von MR-Fe = 15  $\frac{\text{mg}}{\text{g}}$ .

es zu einer stärkeren Dephasierung und einem größeren Signalabfall kommt. Die längeren TE ermöglichen zwar die Aufzeichnung niedrigerer LIC, die Sequenzen sind dadurch aber auch anfälliger für Feldinhomogenitäten (Chavhan et al. 2009). Diese gehen neben den zu messenden Suszeptibilitätsunterschieden vom Eisen in die Berechnung von T2\* mit ein und bedeuten einen Messfehler <sup>7</sup>.

Ein validiertes Protokoll von *Wood et al.* verwendet T2\* GRE-Sequenzen und beschreibt eine Abschätzung der LIC, die mit Leberbiopsien kalibriert wurde (Wood et al. 2005). Unter Verwendung der T2\*-Relaxometrie kann eine relativ exakte Abschätzung der Eisenbeladung als Lebereisentroekengewicht in  $\left[\frac{\text{mg Fe}^{2+}}{\text{g}}\right]$  nach *Wood et al.* angegeben werden. Für die MR-Eisenmessung in dieser Arbeit beriefen wir uns auf dieses Protokoll und zogen es zur Abschätzung der LIC heran (im Weiteren „MR-Fe“, siehe Gleichung 3.2). Diese Berechnung beruht auf der Messung der Signalstärke (SI) in Abhängigkeit von der Echozeit (TE), wie in Gleichung (3.1) beschrieben. Dazu müssen die initiale Signalstärke  $SI_0$  sowie der asymptotische Signal-„off-set“ bei  $TE \rightarrow \infty$  bestimmt werden (Schönnagel et al. 2013). Durch eine Anpassung der Parameter, dem sog. „Fit“, lässt sich eine akkurate Bestimmung der Relaxationsraten R2 oder R2\* aus den Messdaten vornehmen.

$$SI(TE) = SI_0 \cdot e^{-TE \cdot R2} + SI_{TE \rightarrow \infty} \text{ mit } R2 = \frac{1}{T2} \quad (3.1)$$

T2\* GRE-Sequenzen zeigten auch bei niedrigen Eisenkonzentrationen die höchste Sensi-

<sup>7</sup>Vgl. mit Gleichung (6.1)

tivität im Vergleich zu anderen Sequenzen und bieten sich daher für Verlaufsmessungen oder in der Früherkennung an (Gandon et al. 2004, Chavhan et al. 2009). Entscheidend war aber vor allem auch die Möglichkeit, orts aufgelöste Karten zur Eisenverteilung darstellen und auswerten zu können, da die Eisenverteilung innerhalb der Leber häufig nicht homogen ist (Quinn und St. Pierre 2016). Fokale Läsionen oder große Gefäße, wie z.B. im Bereich des Leberhilus, können so bei der Messung ausgespart werden.

$$\text{MR-Fe} = (0,0254 \cdot R2^* + 0,202) \text{ mit } R2^* = \frac{1}{T2^*} \quad (3.2)$$

Die Einflüsse der oben beschriebenen Magnetfeldinhomogenitäten auf  $T2^*$ -Zeiten können durch eine Prozessierung des Signals vermindert werden (Schweser et al. 2014). Diese Korrektur des Signals wurde nach Auswahl der passenden Sequenz in Abhängigkeit vom erhaltenen Wertebereich für unsere Messungen verwendet. Der Signalzerfall wurde über die einzelnen Echozeiten aufgezeichnet, im passenden Wertebereich ergab sich entsprechend der Formel (6.4), S. 18, ein exponentieller Signalzerfall (siehe Abb. 3.2). Im Bereich von niedrigeren Eisenkonzentrationen (entsprechend  $T2^* > 4,8 \text{ ms}$ ) ist das Protokoll nach *Wood et al.* zur Bestimmung der LIC nicht sehr genau (siehe S. 18). Bei zunehmender Echozeit (TE) kommen die Einflüsse von Bildrauschen („noise bias“) immer stärker zu tragen. In Abb. 3.2 (b) wird daher das erwartete, exponentielle Verhältnis<sup>8</sup> zwischen der Signalintensität und der Echozeit verlassen. Die verwendete Sequenz liefert in diesem Bereich bei der Berechnung der Eisenkonzentration aus dem Signalabfall keine validen Ergebnisse.

Der Bereich höherer Echozeiten ( $TE > 4,8 \text{ ms}$ ) ist jedoch diagnostisch für die Festlegung einer Eisenüberladung von Bedeutung. In Abbildung 3.2 (b) wird deutlich, dass diese einzelne  $T2^*$ -Sequenz nicht für den gesamten Wertebereich optimiert ist: Der Signalzerfall folgt dann nicht mehr durchgehend der angenommenen exponentiellen Funktion („Fit“/violette Gerade, bei logarithmischer Skalierung der Signalintensität). Für diese Arbeit wurden daher drei unterschiedliche Sequenzen verwendet, die nachfolgend in Kapitel 6.2 ab S. 18 vorgestellt werden.

### Alternative Verfahren

Ähnlich zur MR-Relaxometrie kann in der Superconducting-quantum-interference-device (SQUID)-Biosuszeptometrie der Eisengehalt in der Leber durch kleinste Magnetfeldschwankungen bestimmt werden. Dabei werden zwei Supraleiter miteinander elektrisch gekoppelt. Eine Änderung des Magnetfeldes zwischen ihnen, z.B. durch Einführen eines eisenhalti-

<sup>8</sup>In Abb. 3.2 (b) wurde die Signalintensität zur Reduzierung des „noise bias“ zunächst quadriert und dann für eine bessere Nachvollziehbarkeit des optimalen Wertebereiches logarithmisch skaliert dargestellt. Es ergibt sich entsprechend des exponentiellen Zusammenhangs aus Gleichung (3.1) das Bild eines linearen Verhältnisses zwischen der logarithmierten Signalstärke und TE („Fit“, violette Gerade) im optimalen Wertebereich. Bei einer linearen Skalierung würde sich hingegen eine Kurvenfunktion zeigen und auftretende Abweichung wären schlechter nachvollziehbar.

---

gen Gewebes, bewirkt eine Spannungsänderung des angelegten Stromes. Die Spannungsänderung wird aufgezeichnet und steht in einem proportionalen Zusammenhang mit der Eisenkonzentration im untersuchten Organ (Nielsen et al. 2002, Vag 2013). Die SQUID-Biosuszeptometrie ist sehr sensitiv und zur nicht-invasiven Bestimmung der LIC geeignet. Dieses Verfahren ist jedoch sehr kostenintensiv und die nötigen Geräte sind nur an wenigen Standorten, wie dem Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, verfügbar (Nielsen et al. 2002).

### 3.2.2 Serum Ferritin (SF)

Serum Ferritin (SF) nimmt eine wichtige Rolle in der Regulation des menschlichen Eisenhaushaltes ein. Es ist ein zytosolischer Proteinkomplex, der sowohl intrazellulär, als auch extrazellulär verfügbar ist (Vag 2013). SF ist ein Depotprotein für Eisen im Körper und dient dadurch der kurzfristigen Regulation des frei verfügbaren Serum-Eisens (Knovich et al. 2009). Die Speicherung des freien Eisens durch SF ist überlebenswichtig, da freie  $\text{Fe}^{2+}$ -Ionen durch die Radikalbildung toxisch für den Organismus sind. Knock-out Mäuse, bei denen das Gen zur SF-Produktion inaktiviert wurde, waren nicht lebensfähig (Knovich et al. 2009).

Der SF-Proteinkomplex selbst besteht aus 24 Untereinheiten, die aus zwei strukturell verschiedenen Anteilen, der *H*- und der *L*-Kette, aufgebaut sind.

Krankheitsbilder, die mit einer vermehrten Eisenspeicherung verbunden sind, können zur Erhöhung des Serumspiegels von SF führen (Ong et al. 2016). Aus Blutentnahmen sind ansonsten in der standardmäßigen Diagnostik des Eisenhaushaltes, z.B. durch die Sättigung des Transporters Transferrin, nur qualitative Schlüsse auf die LIC möglich (Schönagel et al. 2013). Im klinischen Alltag ist SF als Surrogatparameter seit über 40 Jahren Standard für die routinemäßige Abschätzung des Eisenstatus bei Patienten in gutem Allgemeinzustand (Vag 2013).

SF unterliegt jedoch zahlreichen Einflüssen im Rahmen von akuten oder chronischen Entzündungen sowie immunologischen Prozessen, wie bspw. im Rahmen von autoimmunen oder rheumatoiden Krankheitsbildern (Ong et al. 2016). Der Anstieg ist in erster Linie auf die Rolle von SF als „Akute-Phase-Protein“ zurückzuführen (Ong et al. 2016, Schaffner et al. 2017). Nach Stimulierung pro-inflammatorischer Zytokine, wie Interleukin 6, erfolgt durch einen Anstieg des regulatorischen Proteins Hepcidin eine Verringerung von Ferroportin. Dies führt über eine verminderte Freisetzung des intrazellulär bzw. im SF gespeicherten Eisens, unabhängig von den gut gefüllten Eisendepots, zu einem Eisenmangel. Daraus folgt eine kompensatorische Erhöhung von SF und die längerfristige Ausbildung einer Anämie (Ong et al. 2016). Weiterhin relevant sind erhöhte SF-Werte im Rahmen von Makrophagenaktivierungen / Hämophagozytischer Lymphohistiozytose, wie sie auch nach einer SZT zu finden sind. Verantwortlich dafür sind ebenfalls exzessive Zytokinfreisetzen (Sreedharan et al. 2006, Otroek et al. 2017, Ruscitti et al. 2017). Es ist ferner



---

beobachtet worden, dass leukämische Blasten und Makrophagen selbst SF synthetisieren können (Kohgo et al. 2008). Bei der CML ist während Blastenkrisen auch ein erhöhtes SF bekannt (Matzner et al. 1980).

Die Bestimmung von SF ist somit zur Abschätzung des Eisenstatus nach der SZT nicht uneingeschränkt geeignet, denn die zu Beginn beschriebenen typischen Komplikationen nach der SZT (Infektionen, Transplantatabstoßungen sowie GvHD) bedeuten häufig auch starke Akute-Phase-Reaktionen (Kohgo et al. 2008, Ruscitti et al. 2017). Der Eisenspiegel würde durch erhöhte SF-Spiegel überschätzt werden. Trotzdem ist eine frühzeitige Erkennung bzw. Therapie einer Eisenüberladung hinsichtlich der jahrelangen Langzeitfolgen insbesondere bei jungen Patienten sehr wichtig.

Bei Patienten mit einer pathologisch erhöhten Eiseneinlagerung, wie im Rahmen einer Hereditären Hämochromatose, wird SF zur Indikation von Chelat-Therapien genutzt: Zur Steigerung der Spezifität werden Werte größer als  $1000 \mu\text{g/l}$  in zwei unabhängigen Messungen zur Festlegung einer „relevanten“ Eisenüberladung herangezogen (Knovich et al. 2009, Ong et al. 2016). Ab  $\text{SF} > 1000 \mu\text{g/l}$  war das Risiko für siderotische Folgen bei Patienten mit Hämochromatose deutlich höher (Knovich et al. 2009, Ong et al. 2016), sodass ab dann von einer „relevanten Eisenüberladung (IO)“ ausgegangen wurde. Bei allogenen stammzelltransplantierten Patienten konnte bei  $\text{SF} > 1000 \mu\text{g/l}$  ein erhöhtes Risiko für Komplikationen nach der Transplantation festgestellt werden (Jacobi und Herich 2016). In dieser Arbeit berufen wir uns daher auf diese Grenze zur Festlegung einer hohen Eisenüberladung, da die deutlich niedrigeren altersabhängigen Normwerte in Anbetracht der zuvor beschriebenen Einflüsse nicht spezifisch genug erschienen.

### 3.2.3 Scherwellen-Elastografie (SWE) in der Sonografie

Die Sonografie ermöglicht eine nicht-invasive Bildgebung durch das Reflexionsverhalten von Ultraschall-Wellen, das sich aufgrund von Änderungen der Dichte beim Durchlaufen von verschiedenen Gewebeschichten ergibt. Die Auswertung des Signals kann in verschiedenen Modi erfolgen. Weit verbreitet ist die orts aufgelöste Darstellung der Echostärken bzw. -Laufzeiten. Dieser sog. *Brightness (B)-Mode* ermöglicht ein zwei-dimensionales Schnittbild in Echtzeit (Kahl-Scholz und Vockelmann 2017). Ähnlich einer Palpation sind mittels Ultraschall auch Rückschlüsse auf die Steifigkeit eines Gewebes durch das Reflexionsverhalten möglich. Prinzipiell beruht die Technik der Elastografie auf der Messung der Verformung von Gewebe durch einen Druck. Je steifer ein Gewebe ist, desto geringer lässt es sich durch Druck verformen. Umso schwieriger gelangt es daher auch in seinen Ausgangszustand zurück, es ist also rigider bzw. weniger elastisch. Pathologische Umbauprozesse, wie im Rahmen einer Fibrosierung der Leber, gehen mit der Veränderung der Elastizität einher und lassen sich nicht-invasiv detektieren (Mirault et al. 2008, Franchi-Abella et al. 2016).

Es sind verschiedene Elastografie-Verfahren verfügbar und mittlerweile bei zahlreichen Ultraschallgeräten anzutreffen (Stenzel und Mentzel 2014). Drei verschiedene Techniken

---

werden zur Zeit angewendet: Bei der Kompressions-Elastografie erfolgt eine Verformung des zu untersuchenden Gewebes durch Druck des Untersuchers auf den Schallkopf oder durch interne Stimuli, wie z.B. Herzaktionen oder Atembewegungen. Der Vergleich der Verformbarkeit mit angrenzenden Regionen erlaubt im Zielgebiet die Bestimmung eines semi-quantitativen Verhältnisses beider Elastizitäten. Diese Technik ermöglicht auch eine Differenzierung zwischen fokalen (malignen) Läsionen der Leber und gesundem, angrenzenden Gewebe (Stenzel und Mentzel 2014).

Ein anderes Verfahren beruht auf der Verformung eines Zielgebietes mittels eines definierten Drucks aus einem niederfrequenten Vibrationssender. Ein Ultraschallkopf zeichnet daraufhin die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Impulse im Gewebe auf. Absolute Messungen sind mit diesem, als „Transiente Elastografie“ bezeichneten Verfahren, möglich. Es findet beim sog. *Fibroscan*<sup>®</sup> der Firma Echosens, Paris / Frankreich, Anwendung (Friedrich–Rust et al. 2008). Eine bildgestützte Erfassung der Zielregion ist dort nicht möglich, sodass die Messungen „blind“ erfolgen (Stenzel und Mentzel 2014). Die Transiente Elastografie zeigte eine gute Korrelation zu den verschiedenen Fibrose-Stadien der Leber anhand des *METAVIR*-Scores<sup>9</sup> (Friedrich–Rust et al. 2008) und ist weltweit eines der am häufigsten untersuchten Elastografie-Verfahren (Perazzo et al. 2015). Fibrotische Veränderungen bei Kindern mit Thalassämie wurden bereits erfolgreich mittels Transienter Elastografie untersucht (Hamidieh et al. 2014).

In der vorliegenden Arbeit wurde das Verfahren der Scherwellen-Elastografie (SWE) eingesetzt. Die SWE beruht auf dem sog. Acoustic-radiation-force-impulse (ARFI)-Imaging. In einer normalen *B-Mode*-Untersuchung in der vorderen Axillarlinie (VAL) wird eine ROI im rechten Leberlappen (Segment VII oder VIII) platziert und durch kurze akustische Impulse des Schallkopfs wiederholt verformt. Das komprimierte Gewebe absorbiert einen Teil der Energie, die im Anschluss über sog. Scherwellen wieder abgegeben wird. Diese Wellen breiten sich radiär vom Gewebe aus (Sarvazyan et al. 1998, Bruno et al. 2016). Der Ultraschallkopf dient gleichzeitig zur Detektion dieser Scherwellen. Aus der Position der ROI und der Laufzeit der Welle lässt sich deren Ausbreitungsgeschwindigkeit bestimmen, die ein Maß für die Steifigkeit des Gewebes ist (Bruno et al. 2016). Je nach verwendetem Gerät kann die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Scherwellen in [m/s] oder alternativ deren resultierender Schalldruck in [kPa] ausgegeben werden. Das Verfahren bietet im Gegensatz zur „Transienten Elastografie“ den Vorteil, eine bildgestützte Positionierung der ROI vornehmen und z.B. große Gefäße gezielt aussparen zu können. In Abb. 3.3 wird die Platzierung einer solchen ROI im *B-Mode* Bild für eine SWE-Messung beispielhaft dargestellt.

Durch die Integrierung in ein handelsübliches Sonografie-Gerät ist die SWE im Rahmen von Routineuntersuchungen einfach durchführbar.

Die Elastografie unterliegt vielfältigen Einflüssen, wie z.B. der Platzierung der ROI, dem

---

<sup>9</sup>Score zur histo-pathologischen Klassifizierung der Fibrose. Siehe auch Tab. E.1 im Anhang.

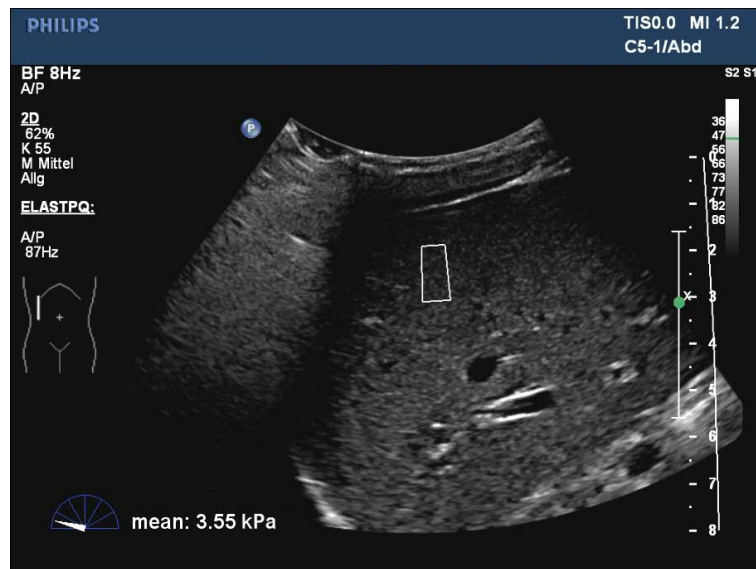


Abb. 3.3 Platzierung der Region of Interest (ROI) im rechten Leberlappen anhand eines *B-Mode* Bildes bei einem Patienten nach SZT. Dargestellt wird ein intercostaler Schnitt in der vorderen Axillarlinie (VAL). Die Markierung der ROI erfolgt mittels weißem, trapezförmigen Rahmen.

Flüssigkeitsgehalt der Zellen, der Füllung der Gallengänge oder der Compliance des Patienten, um nur einige zu nennen (Perazzo et al. 2015, Franchi-Abella et al. 2016). Für vergleichbare Messungen sind daher möglichst einheitliche Versuchsbedingungen nötig. Zwischen den einzelnen Geräten und insbesondere zwischen den verschiedenen Elastografie-Verfahren bestehen teils starke Unterschiede. Eine Übertragung der Ergebnisse oder der Vergleich absoluter Werte auf andere Geräte bzw. Elastografie-Verfahren ist nicht möglich (Stenzel und Mentzel 2014, Franchi-Abella et al. 2016). Insgesamt ist die Elastografie aber routinemäßig einfach und schnell realisierbar.

#### Kombination der SWE mit Serum-Parametern

Die SWE allein lässt keine Unterscheidung über mögliche Ursachen einer erhöhten Steifigkeit der Leber zu, da es zahlreiche Einflussfaktoren gibt. Um den Einfluss von Eisen auf die Steifigkeit des Lebergewebes von diesen Faktoren besser differenzieren zu können, wurde der sog. „HepScore“ aus Serum-Parametern für die Leberfunktion entwickelt. Bei einer Beeinträchtigung der Leberfunktion sollte durch die entsprechend auffälligen Laborparameter ein Anstieg dieses Scores resultieren (Wilhelm 2013, Speer et al. 2019). Es sollte überprüft werden, ob eine erhöhte Steifigkeit des Lebergewebes<sup>10</sup> Umbauprozessen, wie einer Fibrosierung, zuzuordnen ist. Ein Funktionsverlust des Gewebes und folglich auffällige Laborparameter wären in diesem Fall zu erwarten (Mansoor et al. 2015, Jung und Yim 2017). Eine normale Leberfunktion („HepScore“ unauffällig) würde eher andere Ursachen vermuten lassen, wie den direkten Einfluss einer erhöhten LIC oder andere unabhängige Einflussfaktoren der SWE (z.B. der Füllungszustand der Gallenblase /-wege).

<sup>10</sup>Verwendeter Referenzwert: > 5,5 kPa (Fiege et al. 2015)

## 4 Ziele der Arbeit

Eine nicht-invasive Alternative zur Leberbiopsie ist bei der Überwachung von Schäden durch eine zu hohe Eisenaufnahme von großem Interesse. In diesem Zusammenhang sollte der Stellenwert der MR-Relaxometrie in der Diagnostik einer Eisenüberladung (IO) beurteilt werden und ein Vergleich mit dem weitläufigen Standard zur Abschätzung des Eisenstatus, Serum Ferritin (SF), erfolgen. Die Scherwellen-Elastografie (SWE) sollte, als im Vergleich dazu günstiges Verfahren, zur Beurteilung von Leberparenchym- und möglicher Transfusionsschäden herangezogen werden.

Folgende Hypothesen sollten in dieser Arbeit überprüft werden:

1. Kinder entwickeln aufgrund der wiederholten Transfusionen nach einer Stammzelltransplantation (SZT) eine Eisenüberladung.
2. Serum Ferritin (SF) liefert im Rahmen der erwarteten Entzündungen nach einer SZT keine verlässlichen Ergebnisse zur Beurteilung des Eisenspiegels.
3. Die MR-Relaxometrie ist eine Alternative zu SF, die jedoch nicht durch Entzündungen beeinflusst wird.
4. Eine zunehmende Eisenkonzentration kann zu Veränderungen des Leberparenchyms führen, die sich mit der Scherwellen-Elastografie (SWE) beurteilen lassen.

## 5 Teilabschnitte der Promotionsarbeit

Die Arbeit wird nachfolgend in Teilabschnitten vorgestellt:

In einer **Vorbetrachtung** wurde an einer kleinen Patientenpopulation die für die weiteren Auswertungen essentielle Abschätzung nach *Wood et al.* hinsichtlich ihrer Anwendbarkeit bestätigt, nachdem die Sequenzparameter an die Zielpopulation mit geringerer Eisenbelastung als im zugrunde liegenden Original angepasst wurden. Auf dieser Grundlage erfolgte die MR-gestützte Abschätzung der Lebereisenkonzentration (LIC) für den nachfolgenden Hauptteil der Arbeit.

Die eigentliche Betrachtung der zuvor definierten Hypothesen erfolgte anhand von zwei Schwerpunkten:

**TEIL I** In einem retrospektiven Studiendesign wurde bei stammzelltransplantierten Kindern und Jugendlichen die MR-gestützte Abschätzung der LIC zu SF-Spiegeln korreliert.

Die Evaluierung der SWE als schnelle, kostengünstige Alternative zur Beurteilung von Leberparenchym, bzw. dessen Schäden durch Transfusionen, stellte einen weiteren Teil des ersten Abschnitts dar. Sie ist Bestandteil einer Serie an Untersuchungen zur Etablierung der SWE bei Kindern und Jugendlichen, insbesondere der Bestimmung von Einflussfaktoren (Schallkopfposition, Lagerung, Atemlage, Nahrungsaufnahme) der Sektion für Kinderradiologie, IDIR<sup>1</sup> (Kempe et al. 2014).

Weiterhin wurde eine Möglichkeit zur Erhöhung der Aussagekraft der SWE durch eine Ergänzung mit Laborparametern der Leberfunktion (sog. „*HepScore*“) untersucht.

**TEIL II** Die transplantierten Patienten wurden in einem prospektiven Studiendesign über einen Zeitraum von einem Jahr nachverfolgt. Der Fokus dieser longitudinalen Untersuchungen lag in der Abschätzung der Regenerationsmöglichkeiten von Lebergewebe sowie der Beurteilung des unmittelbaren Einflusses von Entzündungsreaktionen auf die LIC. Diese sind für SF hinreichend beschrieben.

Weitere, bisher nicht veröffentlichte, Ergebnisse sind im Anschluss daran ab S. 44 dargestellt. Hierzu gehört vor allem ein **Grenzwert für MR-Relaxometrie**, der, alternativ zum etablierten Grenzwert von SF, eine starke Eisenüberladung anzeigt.

---

<sup>1</sup>Institut für Diagnostische und Interventionelle Radiologie, Universitätsklinikum Jena (UKJ)

# 6 Vorbetrachtungen

## 6.1 Eisen in T2\*-Sequenzen

T2\*-Zeiten ergeben sich aus den T2-Zeiten sowie Magnetfeldinhomogenitäten  $\Delta B$  in dem gemessenen Voxel, wie in Gleichung (6.1) nachfolgend dargestellt.

$$\frac{1}{T2^*} = \frac{1}{T2} + \gamma \cdot \Delta B \quad (6.1)$$

Die Eisenmoleküle interagieren aufgrund ihrer magnetischen Eigenschaften mit dem Magnetfeld  $B_0$ , was zur Dephasierung angrenzender Protonen führt. Eine höhere LIC bewirkt eine schnellere Dephasierung der an das Eisen angrenzenden Protonen mit einem kohärenten Spin. Es kommt damit zu einem schnelleren Signalverlust (Argyropoulou et al. 2007). Die Eisenmoleküle bewirken durch ihr magnetisches Verhalten Feldinhomogenitäten, die in T2\* GRE-Sequenzen eine stärkere transversalen Relaxierung verursachen (Chavhan et al. 2009). Im Gegensatz zu T2 SE-Sequenzen wird dort kein 180° Refokussionspuls zum Ausgleich der Dephasierung durch Feldinhomogenitäten verwendet. Daraus folgt, dass die T2\* GRE-Sequenzen zur Darstellung von Feldinhomogenitäten, wie sie durch Eisen entstehen, besser geeignet ist (Gandon et al. 2004). Die T2\*-Zeit ist durch den zusätzlichen Signalverlust immer kürzer als die T2-Zeit des gleichen Gewebes. Die Gleichung (6.1) beschreibt diese Einflüsse auf die Relaxation, wobei  $\gamma$  dem sog. „Gyromagnetischen Verhältnis“ und  $\Delta B$  der Feldinhomogenität entsprechen. Die Feldinhomogenität setzt sich sowohl aus Suszeptibilitätsunterschieden, wie sie sich im Rahmen einer steigenden LIC ergeben, als auch Magnetfeldschwankungen bzw. -gradienten zusammen (Chavhan et al. 2009).

$$\begin{array}{lll} R_2^* = \frac{1}{T_2^*} & \text{sowie} & c[Fe^{2+}] \sim R_2^* \\ \text{daher ist} & & T_2^* \sim \frac{1}{c[Fe^{2+}]} \end{array} \quad (6.2)$$

Die Stärke des Signalabfalls in einem Voxel ist bei GRE-Sequenzen proportional zur Konzentration an Eisenionen  $c [Fe^{2+}]$  in diesem Voxel (Wood et al. 2005, Argyropoulou et al. 2007, Chavhan et al. 2009). Diese Beziehung lässt sich in Gleichung (6.2) erkennen. Aus Gleichung (6.1) folgt zudem, dass neben der LIC auch Feldinhomogenitäten die T2\*-Zeit beeinflussen. Insbesondere bei sehr niedrigen Eisenkonzentrationen wird die Messung der

LIC ungenau, da dann die Feldinhomogenitäten im Signal überwiegen (Reichenbach et al. 1997, Hernando et al. 2012).

Nach der „*NMR-theory*“ ergibt sich die Signalstärke  $M$  in der Relaxometrie aus dem in Gleichung (6.3) beschriebenen, exponentiellen Abfall der initialen Signalstärke  $M_0$  zum Zeitpunkt  $TE = 0$  ms (Yablonskiy und Haacke 1994, Paisant et al. 2017). Mit dem anti-proportionalen Verhältnis der  $T2^*$ -Zeit zur Eisenkonzentration aus Gleichung (6.2), ergibt sich die in Gleichung (6.4) beschriebene Beziehung zwischen der LIC und der Signalstärke (Yablonskiy und Haacke 1994, Chavhan et al. 2009). Daraus folgt ein exponentieller Zusammenhang zwischen der Eisenkonzentration und dem Signalabfall für den gesamten Wertebereich (Chavhan et al. 2009).

$$M = M_0 \cdot e^{-\frac{TE}{T_2^*}} \quad (6.3)$$

$$M \sim e^{-TE \cdot c[Fe^{2+}]} \quad (6.4)$$

Aus der Messung des Signalabfalls in einer Region of Interest (ROI) lässt durch eine geeignete Konversion, wie bspw. von *Wood et al.* beschrieben, aus dem Signalabfall auf die lokale Konzentration  $c [Fe^{2+}]$  schließen. Das Reziproke der  $T2^*$ -Zeit wird als  $R2^*$  bezeichnet, wie in Gleichung (6.2) dargestellt. Zwischen  $R2^*$  und der LIC liegt ein proportionaler Zusammenhang vor, was sich z.B. als vorteilhaft in grafischen Analysen mit anderen Parametern des Eisenhaushaltes (z.B. SF) zeigt. Es besteht eine anti-proportionale Beziehung von  $T2^*$  und der LIC (Argyropoulou et al. 2007, Chavhan et al. 2009), wie es in Gleichung (6.2) deutlich wird.  $T2^*$  ist folglich bei hohen LIC sehr klein. Deswegen wird aus Gründen der besseren Handhabung in den statistischen Auswertungen und zur besseren Nachvollziehbarkeit in der internationalen Literatur bisweilen auf  $R2^*$  zurückgegriffen. Die Umrechnung der  $T2^*$ -Zeit nach *Wood et al.* berücksichtigt diese Beziehung, sodass in dieser Arbeit zur Vereinfachung der Auswertung das „MR-Fe“ synonym zur LIC bzw. dem korrespondierenden  $R2^*$  angegeben wird (vgl. mit Gleichung (3.2), S. 10).

## 6.2 Anpassung der Sequenzparameter

Zur Verlaufsbeobachtung des Eisenspiegels mittels MR-Relaxometrie sind Sequenzen nötig, die einen möglichst großen, relevanten Bereich der Relaxationszeit umfassen, da sowohl akut hohe Eisenspiegel nach zahlreichen Transfusionen, als auch deutlich niedrigere Spiegel im Verlauf zu beurteilen sind. Die zugrunde liegenden Sequenzparameter nach *Wood et al.* sind für sehr hohe Eisenkonzentrationen (LIC) durch  $T2^*$ -Zeiten bis 4,8 ms optimiert, sodass diese Sequenz zur Abdeckung niedriger Eisenspiegel angepasst werden musste (Wood et al. 2005). In Tabelle 6.1 sind die verwendeten Parameter im Vergleich zur Sequenz nach *Wood et al.* aufgeführt.

Für eine akkurate Berechnung der LIC entsprechend des in Gleichung (6.2) dargestellten linearen Zusammenhangs war es nötig, eine für die jeweilige Eisenkonzentration passende

---

Sequenz zu verwenden. Nach *Yablonskiy und Haacke* war theoretisch von einer Gültigkeit der Korrelation der LIC mit T2\*-Zeiten, wie von *Wood et al.* beschrieben, für den gesamten Wertebereich auszugehen (Yablonskiy und Haacke 1994). Weitere Einflussfaktoren überlagern jedoch diese Beziehung und können die Messung der LIC verfälschen: Ein sog. „noise bias“ des Signals durch Hintergrundrauschen tritt besonders bei hohen Eisenspiegeln, also kurzen T2\*-Zeiten, auf und sollte verringert werden. Bei sehr hohen Eisenkonzentrationen fand zur Verringerung dieser Fehler eine rechnerische Korrektur des Signals statt (Schweser et al. 2014). Es war nötig, zusätzliche Sequenzen aufzuzeichnen, um einen möglichst breiten Wertebereich optimal darstellen zu können. Beim Verlassen des für die jeweilige Sequenz optimierten Bereiches stimmt nämlich der Zusammenhang von T2\* und der LIC nicht mehr gut überein. Interferenzen des Signals von Fettgewebe und Wasser fallen bei längeren T2\*-Zeiten immer stärker ins Gewicht und erschweren die Bestimmung des korrekten T2\*-Wertes. In Abb. 3.2 (b), S. 9, lässt sich diese Abweichung vom angenommenen exponentiellen Zusammenhang zwischen der Signalstärke und der Echozeit (violette Gerade aufgrund der logarithmischen Skalierung der Signalintensität) bei längeren Echozeiten erkennen.

Die Sequenz nach *Wood et al.* wurde durch zusätzliche Echos bis zu einer Zeit von 10,3 ms erweitert, was Messungen von mittleren bis hohen Eisenspiegeln ermöglicht. Das Bildfeld, *Field-of-view (FOV)*, wurde geringfügig kleiner gewählt, da Kinder untersucht wurden und gleichzeitig die spatiale Auflösung bei gleichbleibender Matrix verbessert werden konnte (erhöhte „in-plane-resolution“). Diese Sequenz wird als „TR-min“ in Tabelle 6.1 aufgeführt.

Zwei weitere Sequenzen mit geringerer Schichtdicke wurden zusätzlich aufgezeichnet: In der Sequenz mit kurzer Repetitionszeit („TR-short“) für T2\*-Zeiten  $> 10$  ms, konnte der Effekt von Inhomogenitäten des Magnetfeldes durch die geringere Schichtdicke reduziert werden und ermöglichte so eine akkuratere Bestimmung Feldschwankungen des Eisens (Hernando et al. 2012, Yablonskiy und Haacke 1994). Bei oszillatorischen Interferenzen des Signals von Fettgewebe und Wasser wurde eine dritte Sequenz („TE-inphase“) verwendet. Diese beruht auf sog. „in-phase“-Messungen des Signals von Fett und Wasser. Überlagerungen dieser Signale mit dem Signal vom Eisen ließen sich durch eine solche Messung umgehen.

Alle drei Sequenzen wurden für jeden Patienten aufgezeichnet. Nach der anschließenden Fehlerkorrektur für Hintergrundrauschen (Schweser et al. 2014) wurde die für den jeweiligen Wertebereich passendste Sequenz ausgewählt.



Tabelle 6.1 Übersicht über verwendete Sequenzparameter (obere drei Reihen) im Vergleich zur Sequenz nach *Wood et al.* (unterste Reihe). *TE* - Echozeit, *TR* - Repetitionszeit, *FOV* - Field-of-view; \*einzelne Aufzeichnung \*\*4 repetitive Aufzeichnungen

Sequenz	TR [ms]	TE [ms]	FOV [mm]	Matrix	flip angle [°]	Band- breite [Hz / Pixel]	Schicht- dicke [mm]
TR -min**	12	0,81 - 10,31 ( $\Delta TE = 0,3$ )	321 x 380	54 x 64	20	1735	15
TR -short*	17	2,25 - 8,97 ( $\Delta TE = 1,12$ )	238 x 380	160 x 256	20	1628	4
TE -inphase*	48	4,75 - 34,2 ( $\Delta TE = 4,8$ )	238 x 380	160 x 256	20	279	4
Parameter nach <i>Wood et al.</i> **	25	0,8 - 4,8 ( $\Delta TE = 0,25$ )	405 x 480	54 x 64	20	1565	15

## 6.3 Übereinstimmung der Ergebnisse bei unterschiedlichen Sequenzparametern

Für die weitere Auswertung wurde zur generellen Bestätigung ein Vergleich an 29 Patienten durchgeführt, die im Zeitraum zwischen Januar 2012 und Juni 2015 in der Sektion für Kinderradiologie des IDIR / UKJ<sup>1</sup> eine MRT-Untersuchung mit T2\*-Sequenzen der Leber erhalten hatten.

Es wurden einzelne Messungen zum gleichen Zeitpunkt mit den angepassten Sequenzparametern, sowie den von *Wood et al.* beschriebenen, vorgenommen. Im direkten Vergleich des ermittelten Eisengehaltes sollte mittels linearer Regression ein möglicherweise notwendiger Korrekturfaktor bestimmt werden. Dieser würde in den weiteren Messungen die Umrechnung der T2\*-Zeiten mit den neuen Sequenzen auf die abgeschätzte LIC nach *Wood et al.* ermöglichen.

Die Analyse der Übereinstimmung der verschiedenen Sequenzen erfolgte bei Messungen in einem von beiden Sequenzen abgedeckten Intervall. Im Bereich von  $\{2,5 \text{ ms} < T2^* < 20 \text{ ms}\}$  wurde die Übereinstimmung mit Werten, die mittels „TR-min“-Sequenz erhoben wurden, geprüft. Anhand des Zusammenhangs aus Gleichung (6.2) sollten die dabei erhaltenen Ergebnisse auch für den restlichen Wertebereich zu verallgemeinern sein.

## Auswertung

Der Zusammenhang zwischen den angepassten, neuen Parametern und der Sequenz nach *Wood et al.* wurde mittels einer linearen Regression beschrieben. In dieser wird eine lineare Beziehung mit  $y = \alpha + \beta x + \epsilon$  dargestellt. Die abhängige Variable wird mit  $y$  bezeichnet, die unabhängige Variable durch  $x$ . Der Faktor  $\beta$  bestimmt die Steigung der

<sup>1</sup>Institut für Diagnostische und Interventionelle Radiologie, Universitätsklinikum Jena

Gerade, während  $\alpha$  als Konstante die „Verschiebung“ entlang der y-Achse („*off-set*“) definiert. Bei der Vorhersage des Erwartungswertes von  $y$  dient das Residuum  $\epsilon$  der Erklärung zufälliger Fehler. Die Zielgröße  $T2^*_{\text{Wood}}$  wurde als abhängige Variable ( $y = T2^*_{\text{Wood}}$ ) festgelegt, da die mit der  $T2^*_{\text{TR-min}}$  gemessenen Werte ggf. per Korrekturfaktor  $\beta$  angepasst werden sollten und danach zur Berechnung der Eisenkonzentration („MR-Fe“) herangezogen wurden. Die angepasste Sequenz ( $x = T2^*_{\text{TR-min}}$ ) wurde als unabhängige Variable betrachtet. In der Nullhypothese wurde die Annahme formuliert, dass beide Sequenzen zu den gleichen Ergebnissen führen ( $y = x$ ). Dies würde eine Konstante  $\alpha = 0$  sowie ein Korrekturfaktor  $\beta = 1$  voraussetzen. Zur Überprüfung der Hypothese wurde  $\beta$  als

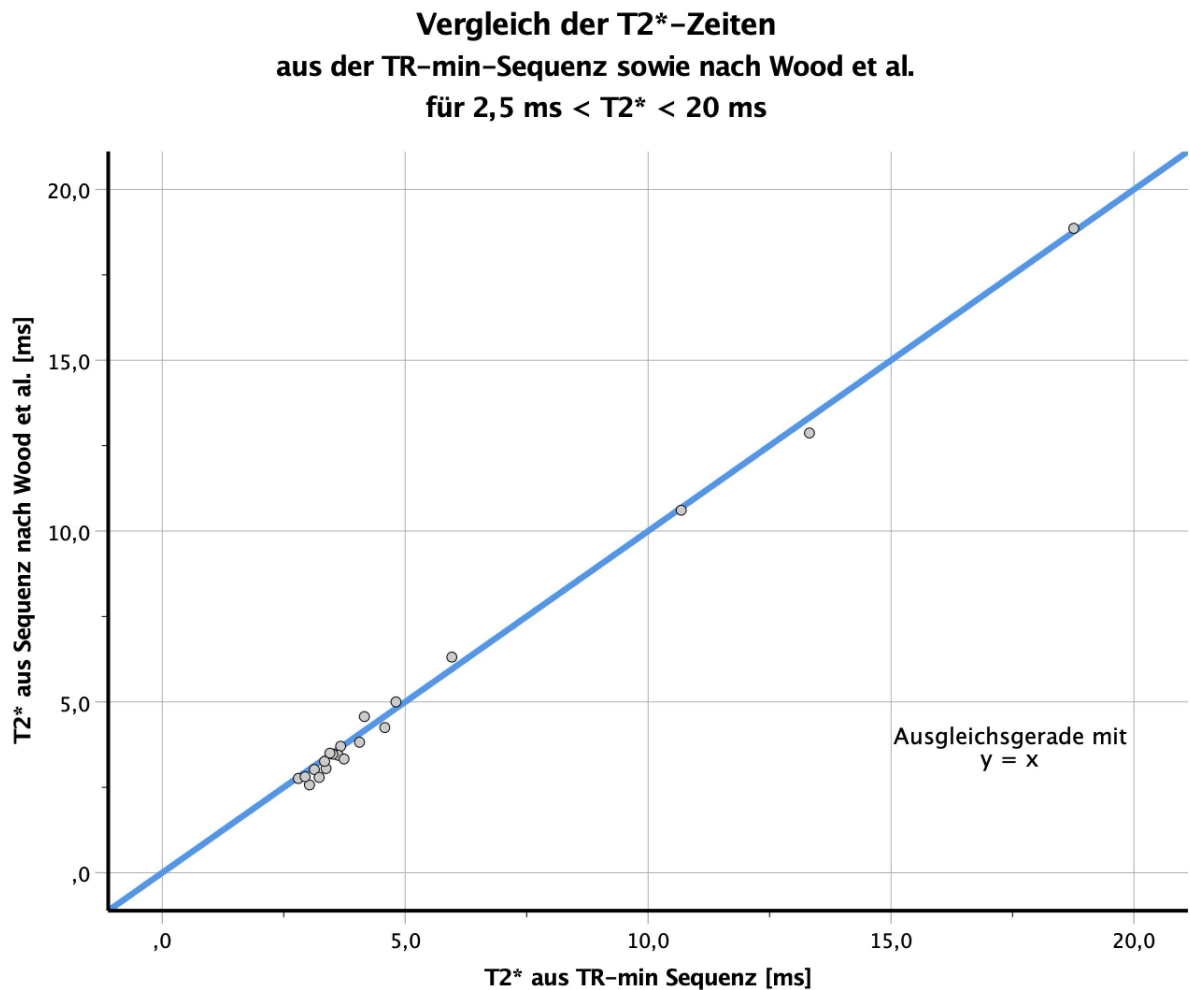


Abb. 6.1 Streudiagramm zum Vergleich der Sequenzen nach *Wood et al.* sowie der adaptierten „TR-min“-Sequenz im Bereich von  $\{2,5 \text{ ms} < T2^* < 20 \text{ ms}\}$ . Die Ausgleichsgerade mit  $y = x$  ergibt eine sehr gute Modellierung ( $R^2 = 0,996$ ) der Messwerte.

möglicher Korrekturfaktor sowie  $\alpha$  für den „*off-set*“ aus den Datenpaaren bestimmt. Die Beschreibung der linearen Regression zwischen beiden Sequenzen sollte eine Umrechnung der „neuen“  $T2^*$ -Messergebnisse in eine Abschätzung des MR-Fe nach *Wood et al.* ermöglichen. Unter Berücksichtigung aller in diesem Bereich liegenden Wertepaare ( $N = 29$ ) ergab die lineare Regressionsanalyse für das Intervall  $\{2,5 \text{ ms} < T2^* < 20 \text{ ms}\}$  ein  $\beta = 0,99$  bei einem Standardfehler von 0,01 (signifikant bei  $p < 0,01$ ). Weiterhin zeigte die

---

Analyse eine sehr gute Korrelation zwischen beiden Parametern (Pearsons  $r = 1$  mit  $p < 0,01$  sowie  $R^2 = 1$ ).

Da das 95%-Konfidenzintervall (KI) mit  $\{0,96 < 1 < 1,02\}$  die in der Hypothese angenommene Konstellation von  $\beta = 1$  einschließt und zudem recht schmal ist, lässt sich die Nullhypothese nicht ablehnen. Der Einfluss der Konstanten  $\alpha = 0,16$  auf die Regression war nicht signifikant ( $p = 0,11$ ) bei einem 95%-KI von  $\{-0,04 < 0 < 0,35\}$ , sodass die Hypothese des „zero offsets“, dem Schnitt der Ausgleichsgerade mit dem Koordinatenursprung, ebenfalls nicht zu widerlegen war. Es kann daher vom Zusammenhang (6.5) ausgegangen werden und die geringen Abweichungen als Schwankungen im Rahmen des zufälligen Fehlers  $\epsilon$  angesehen werden.

$$y(T2^*_{\text{Wood}}) = x(T2^*_{\text{TR-min}}) \quad (6.5)$$

In Abbildung 6.1 wird dieser Zusammenhang verdeutlicht: In dem Streudiagramm wurde analog zur statistischen Auswertung die „TR-min“-Sequenz als abhängige Variable gegenüber den Sequenzparametern nach *Wood et al.* aufgetragen und die Messwerte der Kalibrierung als Punktwolke dargestellt. Es ist gut zu erkennen, dass diese die Ausgleichsgerade entsprechend der Hypothese  $y = x$  deutlich reproduzieren.

Für  $T2^*$ -Werte  $< 2,5$  ms oder  $> 20$  ms kommen Messfehler durch Hintergrundrauschen oder Signalüberlagerungen von Fettgewebe und Wasser, insbesondere bei der Sequenz von *Wood*, vermehrt zur Geltung, sodass ein Wertevergleich außerhalb des „idealen Wertebereichs“ für *Wood's* Sequenz fehlerbehaftet ist. Eine Extrapolierung des oben gezeigten Zusammenhangs ist nach *Yablonskiy und Haacke* für die Korrelation im gesamten Messbereich jedoch zulässig (Yablonskiy und Haacke 1994). Auf Grundlage dessen wurden die in Tabelle 6.1 vorgestellten Sequenzparameter zur Messung von  $T2^*$ -Zeiten in dieser Arbeit herangezogen. Das ermittelte  $T2^*$  wird wiederum zur nicht-invasiven Abschätzung der LIC nach *Wood et al.* (siehe Gleichung 3.2, S. 10) verwendet.

# 7 Methodik

## 7.1 Patientengruppe

In die Arbeit wurden insgesamt 58 Patienten eingeschlossen, die in der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, UKJ im Zeitraum von 2014 bis 2018 autolog oder allogene stammzelltransplantiert wurden bzw. sich in der Nachsorge befanden.

Die Patienten erhielten im Rahmen dieser Studie routinemäßig MRT-Untersuchungen des Abdomens, planmäßig vor der SZT sowie 100 Tage und 1 Jahr danach. Weitere Untersuchungen ergaben sich möglicherweise aus medizinischen Indikationen bei Komplikationen und wurden in den Verlaufsmessungen berücksichtigt.

Einschlusskriterien waren, dass mindestens eine MR-Relaxometrie, eine Blutentnahme (inkl. Bestimmung von SF) sowie eine SWE in diesem Zeitraum zum gleichen Zeitpunkt erfolgreich durchgeführt werden konnten. Weiterhin war eine Maßgabe, dass die Patienten über die Anbindung an die Kinderklinik zum Zeitpunkt der ersten Konsultation vor ihrer SZT unter 18 Jahre alt waren. Für eine möglichst detaillierte Darstellung wurden verfügbare Messungen im Zeitraum vor der SZT als „Ausgangswerte“ aufgenommen, insbesondere um die Eisenbelastung vor der SZT berücksichtigen zu können. Teilweise kam es erst im weiteren Verlauf zur Transplantation, wenn diese bspw. erst später im Rahmen eines Rezidivs erfolgte. Das eigentliche Transplantationsalter liegt daher mitunter sogar im frühen Erwachsenenalter (vgl. Abb. 7.2).

In einer retrospektiven Analyse wurden zunächst sämtliche Patienten ( $N = 58$ ) identifiziert, die die Einschlusskriterien erfüllten und zu wenigstens einem der oben genannten Zeitpunkte mittels MRT oder SWE untersucht wurden. Zeitgleiche MRT- und Ultraschalluntersuchungen ( $\pm 2$  Tage) konnten bei 45 Patienten mit Blutentnahmen in Verbindung gebracht und analysiert werden („TEIL I“). Die MRT-Verlaufskontrollen fanden in einem prospektiven Design an 23 allogene stammzelltransplantierten Patienten statt („TEIL II“). Dazu wurden die Patienten aus der retrospektiven Analyse zu Verlaufsmessungen im MRT am Tag 100 sowie Tag 365 nach der Transplantation vorgesehen und Blutentnahmen an  $\pm 2$  Tagen geplant. Bei 23 allogene transplantierten Patienten konnten die MRTs zu allen drei Zeitpunkten erfolgreich durchgeführt und die nötigen Blutentnahmen realisiert werden.

Eine Übersicht zu den primären Erkrankungen der in diese Arbeit eingeschlossenen Patienten ist nachfolgend in Tabelle 7.1 dargestellt; die Altersverteilung lässt sich in Tabelle 7.2 sowie anhand des Balkendiagramms aus Abb. 7.1 nachvollziehen. Es wurden in bei-

Tabelle 7.1 Auflistung der Zahl der transplantierten Patienten sowie der zugehörigen Diagnosen;  $N_{\text{gesamt}} = 58$  Patienten; (\* *inklusive Morbus Hodgkin*)

Diagnose	Zahl der Patienten	Diagnose	Zahl der Patienten
Akute lymphatische Leukämie (ALL)	24	Hämophagozytische Lymphohistiozytose (HLH)	1
Akute myeloische Leukämie (AML)	14	Ewing Sarkom	2
Lymphom*	3	Neuroblastom	2
Myelodysplastisches Syndrom (MDS)	6	Mukopolysaccharidose (MPS) Typ 1	2
Fanconi Anämie	2	Purtilo Syndrom	1
Juvenile myelomonozytäre Leukämie (JMML)	1		

Tabelle 7.2 Übersicht über Alter (zum Zeitpunkt der Transplantation) sowie Geschlecht der Patienten in der untersuchten Studienpopulation;  $N_{\text{gesamt}} = 58$  Patienten (\* *Stammzelltransplantation*)

	Minimum	Maximum	Mittelwert	Median
<b>Alter bei SZT*</b> (in Jahren)	0,5	19,9	9,63	9,31
<b>Geschlecht</b>	30 männlich		28 weiblich	

den Abschnitten der Arbeit zusammen 30 männliche und 28 weibliche Probanden in die Untersuchungen aufgenommen, deren mittleres Alter zum Zeitpunkt der Messung 9,63 Jahre (J.)  $\pm$  6,2 J. Standardabweichung (SD) betrug. Die Altersverteilung der Patienten (vgl. Abb. 7.1) ist zwei-gipfelig, entspricht kumuliert aber näherungsweise einer Normalverteilung (schwarze Kurve). Die zwei-gipfelige Häufigkeitsverteilung der untersuchten Altersklassen steht vor allem im Zusammenhang mit den am häufigsten vertretenen Diagnosen, ALL und AML (siehe Tab. 7.1). Die Akute lymphatische Leukämie (ALL) ist die häufigste Krebserkrankung im Kindesalter (Creutzig und Lernbecher 2016) und stellte auch in dieser Arbeit den Großteil der Erkrankungen dar. Der Altersgipfel liegt dabei im Kleinkindalter (Creutzig und Lernbecher 2016), was sich in der großen Patientenzahl mit ALL in der Altersklasse von 0,5 bis 4 Jahren in dieser Studie zeigt. Die jugendlichen Patienten wurden überwiegend aufgrund einer AML transplantiert, ein zweiter Gipfel war in der Altersgruppe von 13 bis 19 Jahren zu erkennen.

Ein lokales Ethikvotum wurde im Vorfeld der Studie eingeholt (Antrag Nr. 4130-07/14). Alle Patienten, bzw. deren Eltern oder gesetzliche Vertreter, gaben ihr schriftliches Einverständnis. Die Datenerhebung im Rahmen dieser Arbeit erfolgte im Sinne der Vorgaben

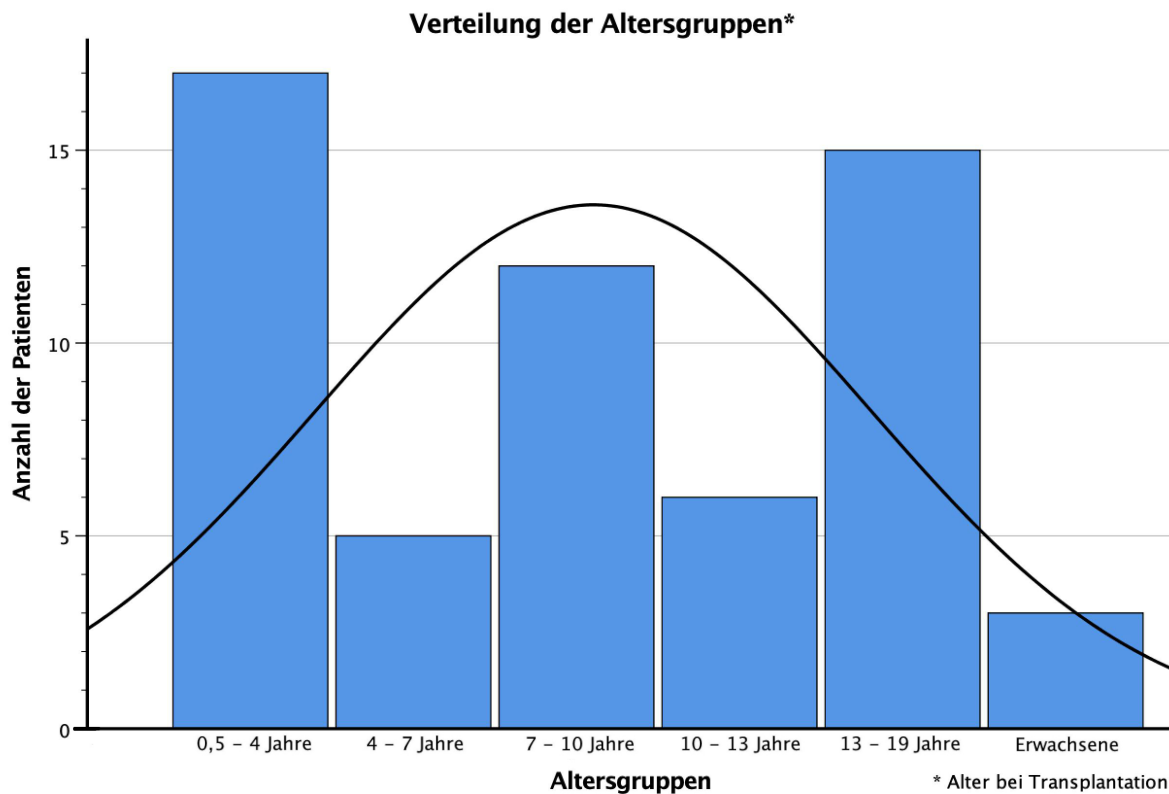


Abb. 7.1 Balkendiagramm der Verteilung der Patientenzahlen auf einzelne Altersklassen. Die Gruppierung entspricht den Altersklassen der Normwerte für die „HepScore“-Berechnung.

der *Deklaration von Helsinki* von 1964 sowie deren späteren Revisionen.

## 7.2 Verwendete Methoden

### 7.2.1 Erhobene Parameter

Die MR-Relaxometrie wurde in dieser Arbeit zur Abschätzung der Eisenkonzentration (LIC) als Referenzmethode verwendet, da Biopsien zur histologischen Sicherung der LIC nicht praktikabel waren. Die aktuelle Datenlage lässt eine hinreichend genaue Bestimmung der LIC bei der Auswahl einer geeigneten Sequenz zu (Wood et al. 2005, Paisant et al. 2017).

Die MR-Relaxometrie wurde als „Indextest“ mit Serum Ferritin (SF)-Messungen aus routinemäßigen Blutentnahmen der selben Patienten verglichen, da SF einen einfach bestimmbaren und weitläufig verwendeten Surrogatparameter des Eisenstoffwechsels darstellt.

Im Weiteren wurde die Scherwellen-Elastografie (SWE) in der vorliegenden Arbeit zur sonografischen Beurteilung von Umbauprozessen als mögliche Folge der Eisenbeladung zur gleichen Zeit verglichen.

Die regelmäßigen Blutentnahmen dienten weiterhin zur Bestimmung des C-reaktiven Proteins (CrPs) als Indikator für Entzündungsreaktionen sowie weiterer Parameter der Leberfunktion, die zur nachfolgend beschriebenen Berechnung eines qualitativen Scores (sog.

---

„*HepScore*“) herangezogen wurden.

Die Anzahl der transfundierten Erythrozytenkonzentrate (EKs) wurde, bezogen auf das jeweils aktuelle Körpergewicht, erhoben. Daraus wurde die sog. transfusionsbedingte „*iron load*“ (IL), die maximale Eisenbeladung des Organismus, bestimmt (vgl. Kap. 7.5.1).

Die einzelnen, verwendeten Referenzwerte sind im Anhang Teil D.1, S. XXVII, zusammengefasst aufgeführt.

### 7.2.2 MR-Relaxometrie

Die Abschätzung der LIC erfolgte in dieser Arbeit mittels MR-Relaxometrie entsprechend des beschriebenen Ansatzes von *Wood et al.* mit den in den Vorbetrachtungen diskutierten Sequenzparametern (siehe Kapitel 6.2, S. 18).

Die Untersuchung der Patienten erfolgte mittels eines 1,5 T MR-Tomographen („*Magnetom Avanto*“, Siemens Healthineers, Erlangen / Deutschland) am IDIR, Universitätsklinikum Jena. Es kamen Mehrkanal-Oberflächenspulen, sog. „*phased array surface coils*“, zum Einsatz (*Spine Matrix* und *Body Matrix* Spulen von Siemens Healthineers). Zur Untersuchung befanden sich die Patienten in Rückenlage. Die Messungen erfolgten in Inspirationsstellung unter Einsatz eines entsprechenden Atemanhaltekommandos, bei Kleinkindern und unruhigen Patienten hingegen in Narkose mit Atemstillstand.

Nach Platzierung einer ROI im rechten Leberlappen, wurde die T2\*-Relaxationszeit mit den in Tabelle 6.1 dargestellten Sequenzen bestimmt und nach der ebenfalls dort beschriebenen Signalkorrektur angepasst (Schweser et al. 2014). Im Anschluss erfolgte die Umrechnung in eine korrespondierende Eisenkonzentration (sog. „*MR-Fe*“) nach *Wood et al.*, wie in Gleichung (3.2) auf S. 10 beschrieben. „MR-Fe“ wurde als Maß für die LIC in weiteren Analysen herangezogen.

Die Messungen erfolgten im Rahmen der prospektiven Verlaufskontrollen nach Transplantation.

### 7.2.3 Blutentnahmen und SF-Bestimmung

In der Regel erfolgten die Blutentnahmen wöchentlich nach der SZT, wobei die Häufigkeit letztlich auch vom individuellen, klinischen Zustand und der Fragestellung abhing. Die Analyse von SF erfolgte im hauseigenen Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin (IKCL) in einem zwei-stufigen Immunassay („*Architect*“, Abbott Laboratories, Irving, Texas / USA).

$\text{SF} > 1000 \mu\text{g/l}$  wurde als Schwelle für eine „relevante“, also potenziell komplikationsbehaftete, Eisenüberladung (IO) festgelegt (Knovich et al. 2009, Ong et al. 2016).

### 7.2.4 Scherwellen-Elastografie (SWE)

Die Steifigkeit des Lebergewebes wurde in einer Scherwellen-Elastografie (SWE) mittels ARFI-Imaging ermittelt, die Elastizität wird in [kPa] angegeben. Die Untersuchungen



Abb. 7.2 Beispielhafte Darstellung der Untersuchungsbedingungen. Der Patient befindet sich in Rückenlage mit eleviertem rechten Arm, sodass eine intercostale Messung in der vorderen Axillarlinie (VAL) erfolgen kann.

wurden bei routinemäßigen Abdomen-Sonografien an einem *iU22*-Ultraschallgerät (Philips Healthcare, Eindhoven / Niederlande) durchgeführt. Die Messung erfolgte in einem intercostalen Schnitt in der vorderen Axillarlinie (VAL), während sich der Patient in Rückenlage mit eleviertem rechten Arm befand. Ein beispielhaftes Setting ist in Abb. 7.2 abgebildet. Nach der *B*-Mode gestützten Platzierung einer ROI im rechten Leberlappen (Segment VII oder VIII), wurden 10 repetitive Messungen mit Atemhaltekommando in Atemmittellage durchgeführt. Zur Auswertung wurde der Medianwert sowie die Standardabweichung (SD) verwendet. Die Platzierung der ROI im *B-Mode* Bild lässt sich in Abb. 3.3 nachvollziehen. Ein Teil der Patienten war zu jung, um einem Atemhaltekommando zu folgen. Die Messung wurde trotzdem durchgeführt, sofern sich die Patienten während der Untersuchung ruhig verhielten und keine starken Atemexkursionen, wie z.B. beim Schreien, stattfanden.

Als Grenzwert wurde in dieser Arbeit für das obere Limit der normalen Lebersteifigkeit 5,5 kPa gewählt. Dieser Schwellenwert war bereits in einer früheren Arbeit für das selbe Ultraschallgerät mit einem 5-1 MHz Konvexschallkopf bei Patienten mit Cystischer Fibrose (CF) validiert worden (Fiege et al. 2015). Im Gegensatz zum anderweitig betrachteten Beginn fibrotischer Veränderungen (Übergang von „*METAVIR*“ F0 in F1<sup>1</sup> (Franchi-Abella et al. 2016)), wählten wir als Grenze für pathologische Veränderungen in der Elastografie den Grenzwert bewusst niedriger aus, nämlich an der Obergrenze des Normalbereiches. Ein höherer Grenzwert ist zwar durchaus spezifischer für pathologische Veränderungen der Leber, aber die niedrigere Grenze ermöglicht eine höhere Sensitivität, was für die angestrebte Früherkennung von Vorteil ist. Um dabei trotz allem eine gute Spezifität zu erreichen, wurde ein klinischer Score zur Einschätzung der Leberfunktion entwickelt, der mit der SWE kombiniert wurde.

<sup>1</sup>Das *METAVIR* F1 Stadium bedeutet eine histologisch erkennbare, portale Fibrose ohne fibrotische Septen (vgl. Tabelle E.1 im Anhang).



---

### 7.2.5 „HepScore“

Gängige Scores zur Beurteilung der Leberfunktion (APRI-Index, Pohl-Score, Forá's Index) basieren u.a. auf der Thrombozytenzahl und können in Anbetracht der häufigen Blutbildungsstörungen bei den hämatologischen Grunderkrankungen oder nach der SZT auch ohne histologischen Leberschaden auffällig sein (Lörke et al. 2007). Auch andere Parameter, wie LDH- oder Albumin-Level, sind im Zusammenhang mit Neoplasien und einem reduzierten Allgemeinzustand möglicherweise nicht spezifisch. Im neuen „HepScore“ wurde auf derartige Parameter verzichtet. Es sollte qualitativ abgeschätzt werden, ob die Leberfunktion beeinträchtigt ist.

#### Aufbau des Scores

Folgende Parameter wurden zur Berechnung des Scores herangezogen: AP, Bilirubin, ChE, CrP,  $\gamma$  GT, GOT, GPT.<sup>2</sup>

Jeder Parameter wurde mit bis zu 2 Punkten bewertet; 0 Punkte wurden für altersabhängig normwertige Parameter vergeben, 1 Punkt bei Erhöhungen bis zum Doppelten des Normbereiches und 2 Punkte bei stärker erhöhten Werten. Bilirubin-Werte waren in frühen Stadien nicht erhöht, sodass ein Anstieg über den Normbereich bereits als stärkere Leberparenchymschädigung betrachtet und mit 2 Punkten bewertet wurde. Insgesamt konnte so ein Score von maximal 14 Punkten erreicht werden. Eine Übersicht zur Berechnung des Scores ist im Anhang D, S. XXVIII, beigelegt.

Die altersabhängigen Normwerte basieren auf den Referenzwerten des für die Auswertung der Blutproben zuständigen Instituts für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik<sup>3</sup> und sind in der Tabelle D.4 des Anhangs zu finden.

## 7.3 Aufarbeitung der Messwerte

Da aufgrund von Akute-Phase-Reaktionen kurzfristige Veränderungen der Messwerte zu berücksichtigen sind, wurden nur MR- oder SWE-Messungen korreliert, die innerhalb von  $\pm 2$  Tagen angefertigt wurden und in Verbindung mit zeitgleichen CrP-Werten, zur Identifikation entzündlicher Prozesse, betrachtet werden konnten. Bei größeren Abständen zwischen den Messungen erfolgte die Aufnahme in die patientenbezogene Statistik als separater Messpunkt.

Die Daten der eingeschlossenen Patienten wurden für orientierende statistische Auswertungen zunächst unabhängig vom Untersuchungszeitpunkt auf Zusammenhänge zwischen den einzelnen Messmethoden untersucht. Im zweiten, prospektiven Teil der Arbeit wurden 23 Patienten identifiziert, bei denen mindestens an den drei definierten Zeitpunkten im

---

<sup>2</sup>Abkürzungen: AP - Alkalische Phosphatase; ChE - Cholinesterase; CrP - C-reaktives Protein;  $\gamma$ GT -  $\gamma$ -Glutamyltransferase; GOT - Glutamat-Oxalacetat-Transaminase; GPT - Glutamat-Pyruvat-Transaminase

<sup>3</sup>IKCL / Universitätsklinikum Jena (UKJ)

---

Verlauf SF, MR-Fe sowie das CrP erfolgreich bestimmt wurden. Um mögliche Unterschiede in der Stärke der Immunantwort zwischen autologen und allogenen Transplantationen als Confounder zu minimieren, wurden hier ausschließlich allogene transplantierte Patienten betrachtet.

## 7.4 Vergleich der Messmethoden (TEIL I)

Bei 45 Patienten lagen, im Rahmen geplanter Messungen nach erfolgreicher SZT, Ultraschalluntersuchungen der Leber mittels Scherwellen-Elastografie sowie zeitgleiche MR-relaxometrische Messungen der LIC und venöse Blutentnahmen vor. Die Messung erfolgte für beide Methoden im rechten Leberlappen (Segment VII oder VIII).

Die Blutentnahmen dienten der Bestimmung von SF, CrP sowie von Surrogatparametern der Leberfunktion. Letztere wurden für die Berechnung des nachfolgend beschriebenen „HepScores“ herangezogen.

Es folgten deskriptive Statistiken sowie Regressions- bzw. Korrelationsanalysen, um mögliche Zusammenhänge zwischen MR-Fe bzw. SF und deren Abhängigkeit von CrP-Spiegeln zu bestimmen. Weiterhin wurden die Korrelationen zwischen der SWE und MR-Fe sowie SF untersucht.

### 7.4.1 Kombination des „HepScores“ mit der Scherwellen-Elastografie

Der „HepScore“ wurde mit der SWE verglichen. Dazu wurden für die SWE zwei dichotome Gruppen definiert (SWE erhöht *vs.* SWE unauffällig), bei denen als Grenze der vorab definierte Referenzwert von 5,5 kPa (Fiege et al. 2015) herangezogen wurde. Die zeitgleich aufgezeichneten „HepScore“-Messwerte der 45 Patienten wurden anhand der zugehörigen SWE-Gruppe aufgeteilt und im Anschluss wurde mittels Receiver-operating-characteristic (ROC)-Analysen und *Youdens Index (J)* der passendste Grenzwert für die Unterteilung der „HepScore“-Werte berechnet. Abschließend erfolgte ein Vergleich der dadurch entstandenen „HepScore“-Gruppen mit den beiden SWE-Gruppen.

Ziel war es, damit einen Grenzwert für den „HepScore“ zu bestimmen, ab dem mit möglichst hoher Genauigkeit auch die SWE erhöht ist (bspw. durch einen Parenchymschaden). Eine Abgrenzung zu Anstiegen aufgrund der zahlreichen anderen Einflussfaktoren auf die Elastografie (siehe Kap. 10.5.3, S. 59), sollte durch die gleichzeitige Bestimmung erleichtert werden.

## 7.5 Longitudinale Analysen nach Stammzelltransplantation (TEIL II)

Die Messungen erfolgten überschneidend bei 23 allogenen transplantierten Patienten in longitudinalen Verlaufskontrollen an den Tagen 0, 100, 365. Tag 0 wurde als letzte Messung

unmittelbar vor der Transplantation definiert. MR-Fe, SF sowie CrP und die Transfusionszahlen ( $N_{EKs}$ ) wurden deskriptiv für diese drei Zeitpunkte verglichen.

Die Patientengruppe wurde individuell mitunter noch wesentlich länger im Verlauf kontrolliert. Direkt nach der Transplantation liegen zudem noch Blutentnahmen vor, für die aufgrund der präventiven Isolation keine korrespondierende MR-Untersuchung zu realisieren war. In 23 individuellen, longitudinalen Verlaufsgrafiken von MR-Fe, SF, der Zahl der Transfusionen und CrP-Werten wurden diese zusätzlichen Werte mit berücksichtigt. Es lagen insbesondere zahlreiche SF- sowie CrP-Bestimmungen aus den routinemäßigen Blutentnahmen vor, sodass eine detaillierte Auswertung der Entzündungsreaktionen nach der Transplantation möglich war. Ein typisches Fallbeispiel wird im Detail beschrieben.

### 7.5.1 Maximale Eisenbeladung („IL“)

Für eine vergleichbare Beurteilung der möglichen Gesamtbelastung aufgrund der Bluttransfusionen wurde die Gesamtzahl ( $N$ ) an Erythrozytenkonzentraten (EKs) gewichtsadaptiert betrachtet<sup>4</sup>. Sehr junge Patienten, mit weniger als ca. 25 kg Körpergewicht, erhielten meist keine kompletten EKs, sondern nur 10 - 20  $\frac{ml}{kg}$ . Die Menge des EKs wurde in diesen Fällen anteilig berechnet. Entsprechend des nachfolgend in Gleichung (7.1) dargestellten Zusammenhangs, wurde die Größe des „Iron Load“ (IL) („*iron load*“) neu definiert. Die EKs liefern ca. 200 mg  $Fe^{2+}$  pro Einheit; die theoretische maximal folgende Eisenkonzentration im gesamten Körper wird durch IL in Gleichung (7.1) dargestellt (KG - Körpergewicht).

$$IL = \frac{N_{EKs} * 200mg Fe^{2+}}{kgKG} \text{ in } \left[ \frac{mg Fe^{2+}}{kg} \right] \quad (7.1)$$

Angelucci et al. beschrieben mit der Gleichung (7.2) eine Abschätzung der resultierenden Eisenbelastung der Leber aus der maximalen Eisenbeladung IL (Angelucci et al. 2000). Diese, im weiteren eLIC („*estimated Liver Iron Concentration*“) genannte, theoretische Eisenkonzentration der Leber wurde zum Vergleich mit MR-Fe Messungen herangezogen und weiterhin zur Einordnung der ungefähren Größenordnung der Eisenaufnahme verwendet: Eine eLIC  $> 7 \frac{mg Fe^{2+}}{g}$  wurde von verschiedenen Autoren als starke Eisenüberladung angesehen (Angelucci et al. 2000, Alústiza et al. 2007, Kohgo et al. 2008).

$$eLIC = \frac{IL}{10,6} \text{ in } \left[ \frac{mg Fe^{2+}}{g} \right] \quad (7.2)$$

### 7.5.2 Ferritin / MR-Eisen Quotient im Verlauf

Das MR-relaxometrisch bestimmte Eisen der Leber (MR-Fe) wurde als Referenz für die LIC angesetzt. Um Veränderungen in deren Verhältnis zueinander aufzudecken, wurde der in Gleichung (7.3) beschriebene Quotient zwischen SF und MR-Fe definiert und in den Auswertungen für die drei Zeitpunkte berechnet. Durch einen Vergleich des Quotienten

---

<sup>4</sup> $N_{EK}$  je kg Körpergewicht (KG)

---

mit dem CrP sollten Rückschlüsse auf, möglicherweise unterschiedliche starke, Auswirkungen von Entzündungsreaktionen auf SF und MR-Fe ermöglicht werden.

$$SF/MR - Fe = \frac{SF}{MR - Fe} \ln \left[ \frac{\mu g \cdot g}{l \cdot mg Fe^{2+}} \right] \quad (7.3)$$

## 7.6 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte nach Rücksprache mit Frau Dr. Mariana Nold sowie Frau Dr. Heike Hoyer am IMSID / UKJ.<sup>5</sup>

In dieser Arbeit wurde ein Signifikanzniveau von  $\alpha = 0,05$  sowie ein 95%-Konfidenzintervall (KI) angesetzt. Soweit nicht anders angegeben, wurden die erhobenen Messwerte auf zwei signifikante Dezimalstellen gerundet.

Die Berechnungen und Diagrammerstellungen fanden software-gestützt mittels IBM *SPSS Statistics* in den Versionen 23 sowie 25, Microsoft *Excel 2007* sowie mit SAS Institute *SAS v9.4* statt.

### Verwendete Testverfahren

Die Übereinstimmung der Sequenzparameter wurde in den Vorbetrachtungen mittels einer linearen Regression geprüft und die Regressionskoeffizienten für eine möglicherweise nötige Umrechnung quantifiziert.

Zur Bestimmung der notwendigen Testverfahren erfolgten primär Analysen zur Normalverteilung der erhobenen Messwerte im sich anschließenden Hauptteil der Arbeit. Im Anschluss wurden orientierend Korrelationsanalysen zwischen den einzelnen Parametern durchgeführt. Es wurden deskriptive Statistiken berechnet und die Datensätze nach verschiedenen Fragestellungen gruppiert (z.B. erhöhtes *vs.* normwertiges CrP). Die Mittelwerte der gruppierte Daten wurden verglichen. Der *Mann-Whitney-U-Test* kam beim Vergleich unabhängiger, nicht normalverteilter Stichproben zum Einsatz. Diese lagen beispielsweise bei den nach erhöhtem *vs.* normalem CrP-gruppierten Messwerten<sup>6</sup> von SF sowie MR-Fe in TEIL I der Analysen vor. Analog dazu konnte ebenfalls im TEIL I der Arbeit mittels *Mann-Whitney-U-Test* analysiert werden, ob die berechneten „HepScore“-Werte eine Assoziation zu SWE-Messungen zeigten.

Ein *Wilcoxon-Test* wurde zum Vergleich der einzelnen Mittelwerte an den drei verschiedenen Messzeitpunkten nach SZT im TEIL II angewendet, da hier nicht-normalverteilte Stichproben vorlagen, die durch die wiederholte Messung der selben Patienten abhängig waren.

Spearman's  $\rho$  wurde bei diesen ersten orientierenden Analysen als Maß der (nicht-parametrischen) Korrelation für nicht-normalverteilte Messwerte (wie bspw. SF) herangezogen.

---

<sup>5</sup>Institut für Medizinische Statistik, Informatik und Datenwissenschaften / Universitätsklinikum Jena

<sup>6</sup>Grenzwert: CrP > 7,5 mg/l

---

Die Übereinstimmung der einzelnen Messmethoden wurde mittels Receiver-operating-characteristic (ROC)-Analysen untersucht und graphisch dargestellt. Aus diesen Analysen wurden mittels *Youden's Index*  $J^7$  die optimalen Grenzwerte der verglichenen Größen abgeleitet. Dieses Verfahren wurde sowohl für den optimalen Grenzwert von MR-Fe im Bezug auf SF, als auch für die Ermittlung eines „HepScore“-Grenzwertes, im Vergleich zu erhöhten SWE-Messwerten, angewendet.

Bei den in die Verlaufsbeobachtungen eingeschlossenen Patienten gab es mehr als einen Messwert pro Patienten. Für die beiden nachfolgend geschilderten Auswertungen wurde daraus eine Messung pro Patient gezogen. Bei der Berechnung des besten T2\*-Grenzwertes in der ROC-Analyse wurde jeweils die späteste, verfügbare Verlaufsmessung pro Patient ausgewertet, um nicht-proportionale Einflüsse durch Entzündungen möglichst gering zu halten. Die Berechnung des „HepScore“-Limits in der ROC-Analyse erfolgte ebenfalls aus den spätesten SWE-Verlaufsmessungen, um mögliche Umbauprozesse maximal zu erfassen und gleichzeitig den Einfluss passagerer Entzündungen auf den „HepScore“ zu minimieren. Für die Untersuchung der Einflüsse von Entzündungsreaktionen wurden im Gegensatz dazu die ersten, verfügbaren Messungen von SF und MR-Fe nach der SZT isoliert betrachtet. An dieser Stelle wurde nochmals auf einen *Mann-Whitney-U-Test* zurückgegriffen. Die ersten Messungen nach SZT wurden anhand des CrPs gruppiert (unterhalb *vs.* oberhalb 7,5 mg/l) und verglichen.

Anstatt alle Messwerte ohne Berücksichtigung des Zeitpunktes gesammelt zu betrachten, konnte in diesen beiden Fällen ein statistischer Fehler bei der mehrfachen Messung einzelner Patienten vermieden werden. Die Signifikanz war jedoch bei einer kleineren Stichprobe herabgesetzt (nun nur noch 58 Messwerte anstatt der 226 aufgezeichneten Paare).

Einzelne Gesichtspunkte konnten hingegen in orientierenden Auswertungen für sämtliche erhobene Messwerte mit Verallgemeinerten Schätzgleichungen, sog. *Generalized Estimating Equations (GEE)*, unter Kontrolle des Einflusses von mehrfach eingeschlossenen Patienten überprüft werden: Unter der Voraussetzung einer dichotomen Gruppierung der untersuchten Einflussgröße (in diesem Fall erhöhtes *vs.* normales CrP) wurde dabei die Assoziation von MR-Fe sowie SF-Messungen zu erhöhtem CrP für sämtliche, erhobene Messwerte geprüft. Eine  $\gamma$ -Verteilung der Messwerte wurde angenommen und die Analyse mittels einer *log link*-Funktion sowie eines globalen *F*-Tests, basierend auf einer *Wald*-Statistik, durchgeführt.

---

<sup>7</sup>Mit diesem Verfahren lässt sich der Grenzwert eines Parameters berechnen, der im Vergleich zu einem bekannten Grenzwert eines zweiten Parameters gleichzeitig die höchste Sensitivität und die höchste Spezifität besitzt. Die Analyse erfolgt aus einem ROC-Diagramm der beiden Parameter (Youden 1950).

## 8 Ergebnisse

### 8.1 Übersicht

Bei den 58 untersuchten Patienten wurde MR-Fe, über alle Zeitpunkte hinweg, im Bereich von  $0,12 \frac{\text{mg Fe}^{2+}}{\text{g}}$  bis  $22,82 \frac{\text{mg Fe}^{2+}}{\text{g}}$  berechnet (mittleres MR-Fe =  $5,29 \frac{\text{mg Fe}^{2+}}{\text{g}} \pm 4,86 \frac{\text{mg Fe}^{2+}}{\text{g}}$  SD). Zugrunde lagen T2\* Messungen im Bereich von 1,14 ms bis 35,40 ms (im Mittel  $10,21 \text{ ms} \pm 9,33 \text{ ms}$  SD).

Die Patienten erhielten im Zeitraum zwischen der ersten Transfusion vor SZT und einem Jahr nach SZT gemittelt 22,2 Transfusionen (Minimum 4 Stk. und Maximum 49 Stk.).

Die ermittelten SWE-Werte lagen im Bereich zwischen 1,29 kPa und 35,45 kPa (im Mittel:  $5,16 \text{ kPa} \pm 3,49 \text{ kPa}$  SD).

Serum Ferritin (SF) lag bei den 58 untersuchten Patienten zwischen  $14 \mu\text{g/l}$  und  $34921 \mu\text{g/l}$  bei einem Mittelwert von  $3113 \mu\text{g/l}$ ; beim zeitgleich bestimmten CrP wurden Werte zwischen  $2 \text{ mg/l}$  und  $227 \text{ mg/l}$  aufgezeichnet (Mittelwert:  $10,28 \text{ mg/l}$ ).

Relevante Komplikationen nach der Transplantation sowie Voerkrankungen der Leber sind in Tabelle 8.1 zusammengefasst aufgeführt.

Tabelle 8.1 Kumulierte Inzidenz relevanter Komplikationen nach der Stammzelltransplantation (SZT) sowie vorbestehender Erkrankungen der Leber aus beiden Teilabschnitten der Arbeit. N = 58 Patienten; (\* vorbestehende und behandelte Hepatitis)

Komplikation	Zahl der Patienten
Graft-versus-host-disease (GvHD)	7 / 58 (12,1 %)
Veno-occlusive-disease (VOD)	4 / 58 (6,9 %)
Rezidiv	6 / 58 (10,3 %)
Infektiöse Hepatitis*	1 / 58 (1,7 %)

### 8.2 Vergleich der Messmethoden (TEIL I)

#### 8.2.1 MRT und SF im Vergleich

Die Verteilung der SF- und MR-Fe Messwerte der, in diesem Teil untersuchten, 45 Patienten suggerierte eine  $\gamma$ -Verteilung. Diese wurde bei der Auswahl der nachfolgend beschriebenen, statistischen Modelle berücksichtigt.

Die Verallgemeinerte Lineare Schätzgleichung, „Generalized Estimating Equation“ (GEE), zeigte bei Adjustierung auf die wiederholte Messung der einzelnen Patienten im Verlauf

keinen signifikanten Einfluss von erhöhten CrP-Werten auf MR-Fe bei einem  $p$ -Wert von 0,48. Der Exponent  $B$  umfasst im relativ schmalen 95%-KI von 0,61 bis 1,26 auch den Wert 1, der ein unverändertes MR-Fe bei erhöhtem sowie normalen CrP bedeuten würde. Die Hypothese von Unterschieden in den nach erhöhten und normalen CrP-Werten gruppierten MR-Fe Messungen musste daher abgelehnt werden.

Analog dazu wurde eine GEE zum Vergleich des Einflusses von erhöhtem CrP auf die SF-Messungen durchgeführt. Die SF-Werte waren im Mittel um den Faktor 1,37 (95%-KI: 0,86 ... 2,16) höher, als wenn das CrP unauffällig war. Dieses Ergebnis war jedoch bei einem  $p$ -Wert von 0,19 nicht signifikant. SF zeigte allerdings eine große Varianz und die verfügbare Anzahl der Messungen war aufgrund der kleinen Stichprobengröße limitiert; das nicht signifikante Ergebnis ist möglicherweise auch dadurch bedingt. Weiterhin muss berücksichtigt werden, dass die Entzündungsreaktionen im Vergleich zur gesamten Beobachtungsdauer auf einen relativ kurzen Zeitraum limitiert sind. Die Einflüsse fallen dadurch mitunter nicht stark ins Gewicht und lassen sich statistisch nicht signifikant darstellen.

Die ersten SF-Messungen nach der Transplantation lagen im Zeitraum der stärksten Immunreaktionen und zeigten im *Mann-Whitney-U-Test* einen signifikant höheren, mittleren Rang, wenn sie bei erhöhtem CrP aufgezeichnet wurden ( $p = 0,02$ ). Für MR-Fe war hingegen kein signifikanter Unterschied in beiden Gruppen nachweisbar ( $p = 0,40$ ). Diese Beobachtungen waren in den nachfolgend dargestellten Verlaufsdiagrammen reproduzierbar.

Die SWE zeigte hingegen zu keinem Zeitpunkt, weder mit SF ( $p$  zwischen 0,12 und 0,71), noch mit MR-Fe ( $p$  zwischen 0,25 und 0,51), eine signifikante Korrelation nach *Spearman*.

### 8.2.2 Kombination der SWE mit dem „HepScore“

Die in Abb. 8.1 dargestellte Analyse mittels ROC-Kurve ergab eine gute Übereinstimmung bei einer „Fläche unter der Kurve“, *Area-under-the-curve (AUC)*, von 0,72 (95%-KI: 0,61 ... 0,93). Der nach *Youden's Index (J)* berechnete beste Grenzwert zwischen den beiden „HepScore“-Gruppen lag bei  $\leq 5$  Punkten. Es zeigte sich dabei die übereinstimmende Zuordnung der Patienten analog zu den SWE-Gruppen mit einer Sensitivität von 67 % sowie einer Spezifität von 68 %.

In Abbildung 8.2 wurde diese Beobachtung anhand vergleichender Boxplots für beide

Tabelle 8.2 Gruppierung der „HepScore“-Messungen anhand der Assoziation mit normaler ( $SWE \leq 5,5 \text{ kPa}^1$ ) bzw. erhöhter Steifigkeit der Leber ( $SWE > 5,5 \text{ kPa}^2$ ).  $N_{\text{gesamt}} = 45$  Patienten mit zeitgleichen Messungen. \* *Ergebnis des Tests*:  $Z$ -Wert = -3,75;  $p < 0,001$

	Mittlerer „HepScore“ sowie 95%-KI	Mittlerer Rang im <i>Mann-Whitney-U-Test</i> *	Zahl der Patienten
<b>SWE normal</b> <sup>1</sup>	3,64 (3,04 - 4,24)	46,93	30
<b>SWE erhöht</b> <sup>2</sup>	5,97 (4,75 - 7,19)	70,15	15

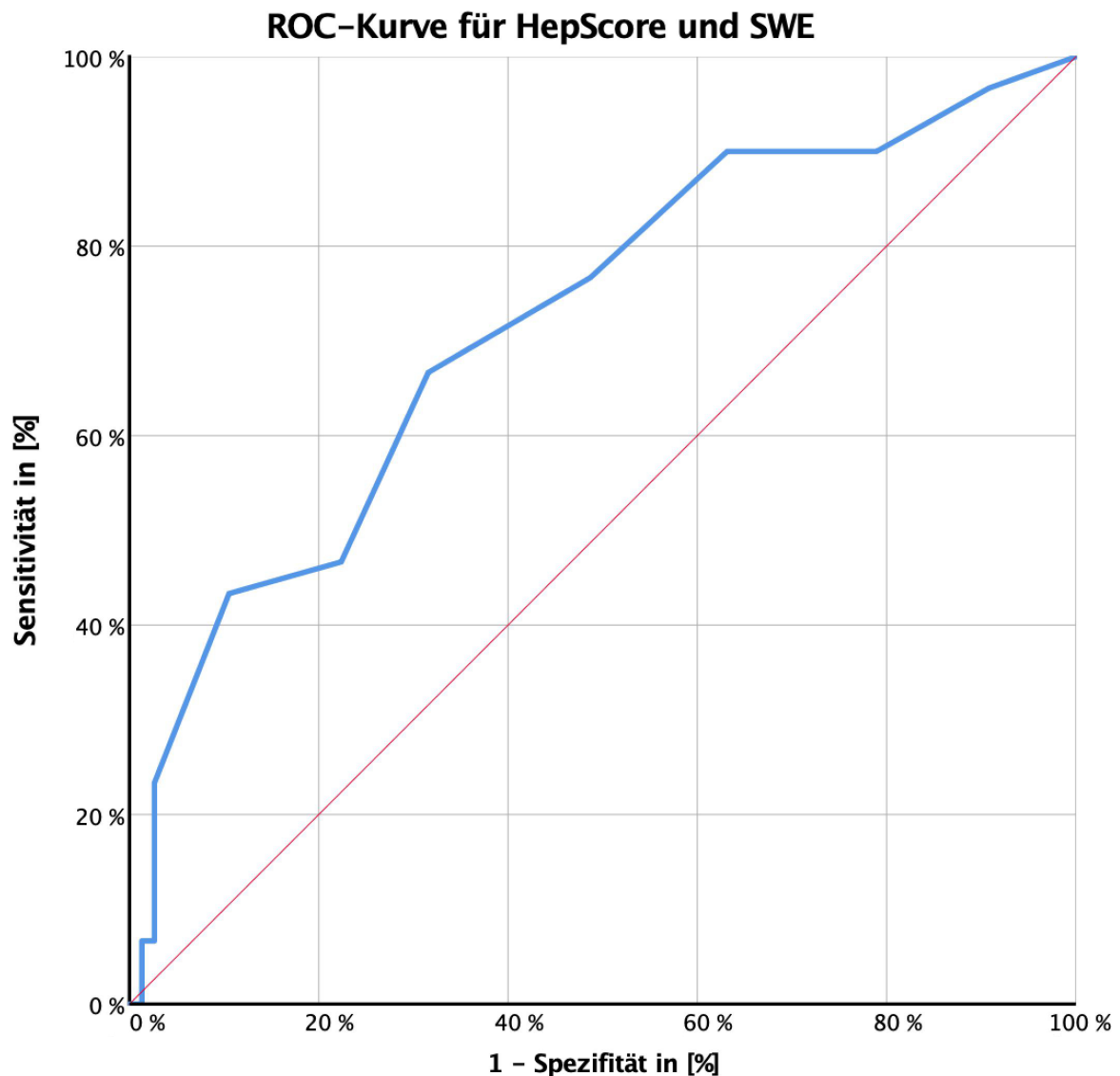


Abb. 8.1 ROC-Analyse des „HepScores“ sowie der Scherwellen-Elastografie (SWE). Für die SWE wurden Messungen  $> 5,5$  kPa als erhöht betrachtet. Dargestellt ist die *Richtig-positiv-Rate* (Sensitivität, in [%]) sowie die *Falsch-negativ-Rate* (1 - Spezifität, in [%]) im Vergleich beider Methoden. Der blaue Graph zeigt eine gute Übereinstimmung der Testergebnisse: AUC = 0,72 bzw. 72% (95%-KI: 0,61 ... 0,93; N = 45 Patienten.) Eine AUC = 0,5 bzw. 50 % wird durch die rote Referenzlinie dargestellt.



Gruppen grafisch aufgearbeitet. Es ist gut zu erkennen, dass auch hier deutlich höhere „HepScore“-Werte bei erhöhter Leberparenchym-Steifigkeit ( $SWE > 5,5 \text{ kPa}$ ) gemessen wurden. Der Mittelwert der Gruppe der erhöhten SWE lag bei annähernd 6 Punkten und ist damit entsprechend des zuvor ermittelten Grenzwertes als erhöht anzusehen. Im Gegensatz dazu zeigt der Mittelwert in der Gruppe der normwertigen SWE einen im Mittel nicht erhöhten „HepScore“ (siehe Tab. 8.2 für eine Gegenüberstellung der Gruppen). Der ebenfalls dort dargestellte *Mann-Whitney-U-Test* konnte dieses Ergebnis bestätigen: Es lagen signifikant höhere, mittlere „HepScore“-Ränge bei erhöhten SWE-Messungen vor ( $p < 0,001$ ). Die zentralen Tendenzen waren daher übereinstimmend. Im Diagramm sind in der Gruppe der normwertigen Steifigkeit noch zwei „Ausreißer“ dargestellt. Diese sind mit infektiösen Komplikationen nach der SZT assoziiert.

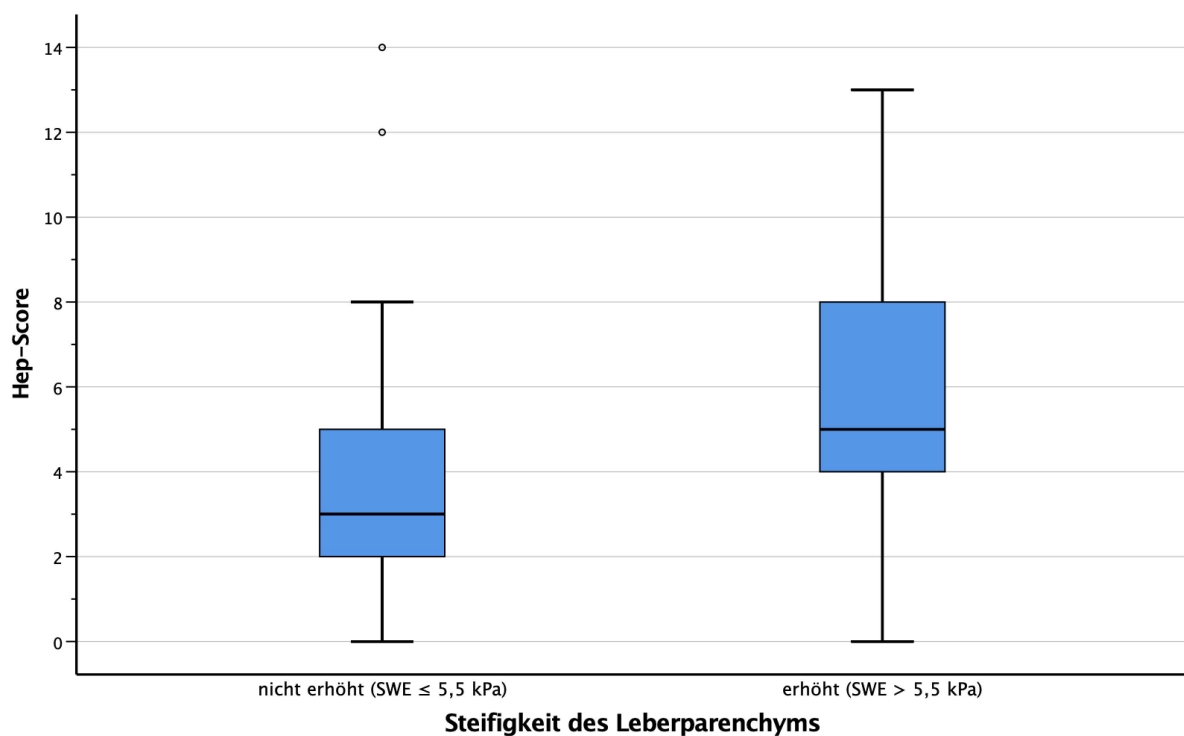


Abb. 8.2 Vergleich zweier „HepScore“-Gruppen mittels Boxplots. Die Gruppierung der „HepScore“-Messwerte erfolgte nach Assoziation zu erhöhter ( $> 5,5 \text{ kPa}$ ) und unauffälliger ( $\leq 5,5 \text{ kPa}$ ) Elastografie (SWE).  $N_{\text{gesamt}} = 45$  Patienten ( $N_{\text{unauffällig}} = 30$ ;  $N_{\text{erhöht}} = 15$ ).

### 8.2.3 Vergleich der Verlaufsmessung mittels SWE, MRT sowie „HepScore“

In Abb. 8.3 wird der Verlauf eines männlichen Patienten zwischen März 2015 und August 2016 dargestellt, der im Juli 2015 mit 7 Jahren aufgrund einer ALL stammzelltransplantiert wurde. In diesem Zeitraum wurden insgesamt 11 EKs verabreicht, die zum kontinuierlichen Anstieg von MR-Fe führten. Die Steifigkeit des Leberparenchyms (SWE) stieg im Verlauf nach der SZT an, war jedoch im Anschluss wieder rückläufig. Dieser Trend wird auch von erhöhten „HepScore“-Werten im gleichen Zeitraum abgebildet. Der initial

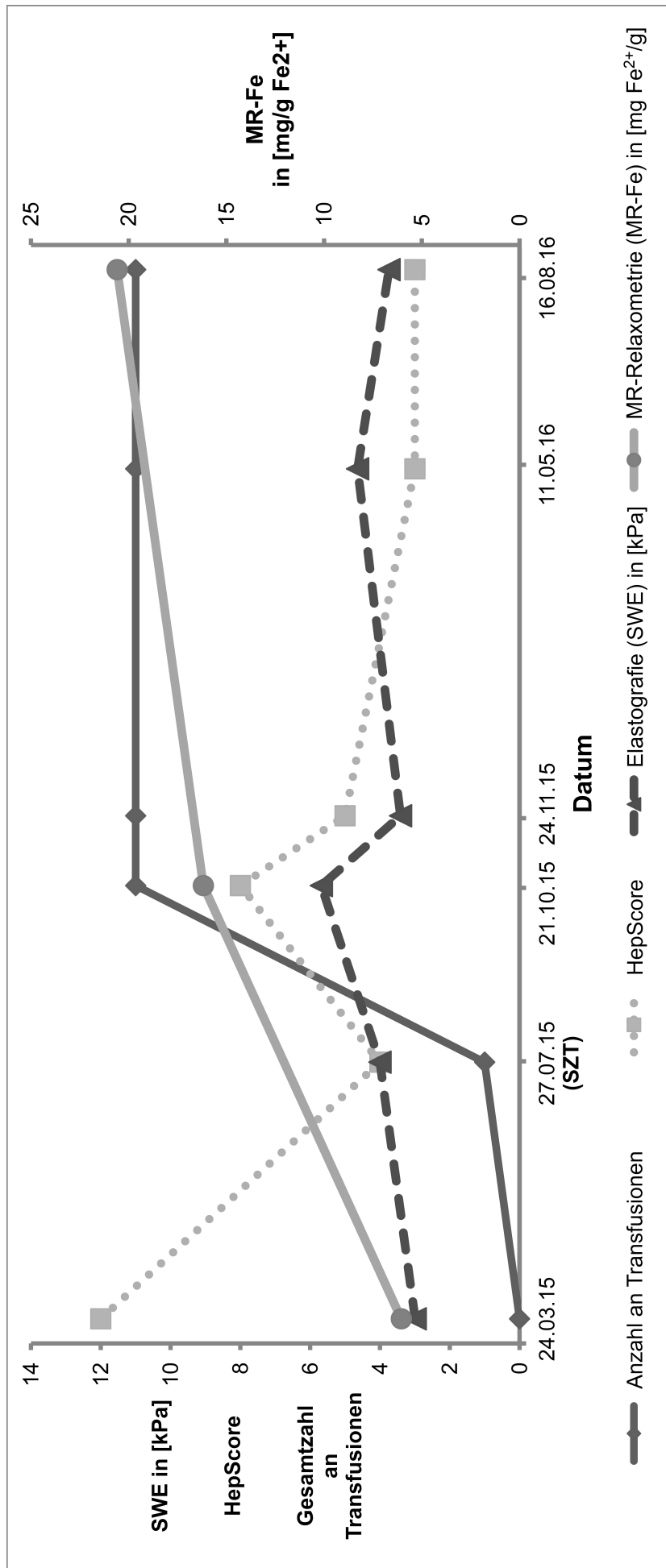


Abb. 8.3 Dargestellt sind Verlaufsmessungen bei einem männlichen Patienten, der mit 7 Jahren aufgrund einer ALL im Juli 2015 transplantiert wurde („SZT“). Verglichen wird die Scherwellen-Elastografie (SWE) (dunkelgraue, unterbrochene Linie mit Dreiecken), die MR-Relaxometrie (MR-Fe; hellgraue Linie und Punkte) sowie der „HepScore“ (hell-graue, gepunktete Linie und Quadrate) mit der Anzahl an Transfusionen (dunkelgraue Linie und Rhomben).

---

sehr hohe „HepScore“-Wert muss unter Berücksichtigung weiterer Einflussfaktoren auf den Score interpretiert werden: Zum Zeitpunkt der Berechnung des ersten Wertes (März 2015) befand sich der Patient noch in der Therapie einer Kathetersepsis, die ca. 1,5 Wochen zuvor aufgetreten war und zum Zeitpunkt der Messung u.a. mit Meropenem, Teicoplanin und Amphotericin B erfolgreich anbehandelt worden war. Andere Komplikationen mit Einfluss auf die „HepScore“-Parameter, wie bspw. eine VOD, konnten radiologisch in einer Abdomensonografie ausgeschlossen werden. Die dabei durchgeführte SWE war unauffällig und gab keinen Anhalt für pathologische Veränderungen der Steifigkeit.

#### Typische Beobachtungen bei allen Patienten

Im Allgemeinen traten ähnliche Verläufe beim Großteil der Patienten auf: Die größte Anzahl an Transfusionen wurde kurz vor sowie innerhalb des ersten Monats nach SZT benötigt. MR-Fe stieg in diesem Zeitraum stark an. Die Elastografie zeigte regelmäßig einen Anstieg der Steifigkeit nach der SZT, die von steigenden „HepScore“-Werten begleitet wurden. Die individuellen Verläufe und mögliche Komplikationen müssen jedoch immer berücksichtigt werden, was weitere induktive Schlüsse schwer möglich macht.

#### 8.2.4 Einfluss von Komplikationen und Erkrankungen der Leber

Während der Verlaufsmessungen kam es bei zwei Patienten aus dieser Gruppe zu einem Rezidiv; weitere zwei Patienten entwickelten eine Veno-occlusive-disease (VOD). Eine Graft-versus-host-disease (GvHD) trat bei drei Patienten auf. Dazu kam eine Patientin, bei der bereits vor der SZT eine infektiöse Hepatitis erfolgreich therapiert wurde.

Bei Messungen im Rahmen von Infektionen ( $\text{CRP} > 7,5 \text{ mg/l}$ ) war der „HepScore“ in 43 % der Fälle erhöht. Bei der SWE zeigte sich teilweise eine Assoziation mit den beschriebenen Komplikationen. Zwei der drei Patienten (66 %) mit einer GvHD zeigten sowohl erhöhte „HepScore“- als auch SWE-Messwerte. Bei nur einem der beiden war auch MR-Fe erhöht. Der dritte Patient zeigte hingegen einen unauffälligen „HepScore“ sowie keine erhöhte SWE. MR-Fe war allerdings nach zahlreichen Transfusionen erhöht. Bei den zwei Patienten mit VOD war weder die SWE noch der „HepScore“ auffällig.

### 8.3 Longitudinale Analysen nach Stammzelltransplantation (TEIL II)

#### 8.3.1 Deskriptive Analysen

Die von 23 Patienten erhobenen Messwerte wurden zunächst nach den drei Zeitpunkten (Tag 0, 100, 365) getrennt in Tabelle 8.3 zusammengefasst und mittels Boxplot-Diagrammen (Abb. 8.4) dargestellt. Dabei wurden SF, MR-Fe, CrP sowie die auf das Körpergewicht normierte, transfusionsbedingten Eisenaufnahme („*iron load*“, IL) ausge-

---

wertet. Eine Normalverteilung der Messungen konnte für keinen der Parameter aus Tab. 8.3 angenommen werden.

Wie in dieser Tabelle 8.3 dargestellt, steigt die „Iron Load“ (IL) bzw. Gesamtzahl der Transfusionen kontinuierlich an. Zwischen Tag 0 und Tag 100 kam es aufgrund des höchsten Transfusionsbedarfes zu den größten Anstiegen: Im Mittel wurden in dieser Zeit 10,5 EKs transfundiert; insgesamt wurden bei den 23 Patienten durchschnittlich 24,3 EKs im Zeitraum zwischen der ersten Transfusion vor der SZT bis einschließlich 365 Tage danach benötigt. Die mittleren CrP-Werte waren mit jedem späteren Messzeitpunkt rückläufig. Diese Entwicklungen sind auch in den beiden Verlaufsgrafiken Abb. 8.3 und Abb. 8.5 nachvollziehbar.

Die theoretisch mögliche LIC wurde zu diesen drei Zeitpunkten nach *Angelucci et al.* abgeschätzt (siehe Gleichung (7.2), S. 30). Der Mittelwert lag zu jedem der drei Zeitpunkte der Messung oberhalb vom beschriebenen Grenzwert für eine Eisenüberladung von  $7 \frac{\text{mg Fe}^{2+}}{\text{g}}$  (vgl. Tab. 8.3). Insgesamt zeigten 17 von 23 Patienten (74 %) eine eLIC oberhalb von  $7 \frac{\text{mg Fe}^{2+}}{\text{g}}$ .

Aus Tabelle 8.3 geht zudem hervor, dass die Mittelwerte von MR-Fe und SF vom Ausgangspunkt vor der SZT zum Tag 100 zunächst anstiegen, bei Tag 365 aber rückläufig waren.

## Einfluss von Komplikationen

Während der Verlaufskontrollen trat bei keinem Patienten dieser Gruppe eine VOD auf. Bei 7 Patienten wurde eine GvHD diagnostiziert. Davon zeigten drei Patienten schwerwiegendere Verläufe der GvHD (Grad III / IV nach *Glucksberg et al.*<sup>1</sup>) sowie sehr hohe SF-Messwerte im Bereich von 7000  $\mu\text{g/l}$  bis 14 000  $\mu\text{g/l}$ . Bei den leichteren Verläufen war SF geringer erhöht und befand sich in etwa auf dem Niveau der Messungen anderer Patienten mit erhöhtem CrP<sup>2</sup>, die jedoch keine GvHD entwickelt hatten. Bei 12 von 14 erhöhten CrP-Messungen (86 %) lagen die Messwerte von SF oberhalb von 1000  $\mu\text{g/l}$ .

### 8.3.2 Vergleich der drei Messzeitpunkte

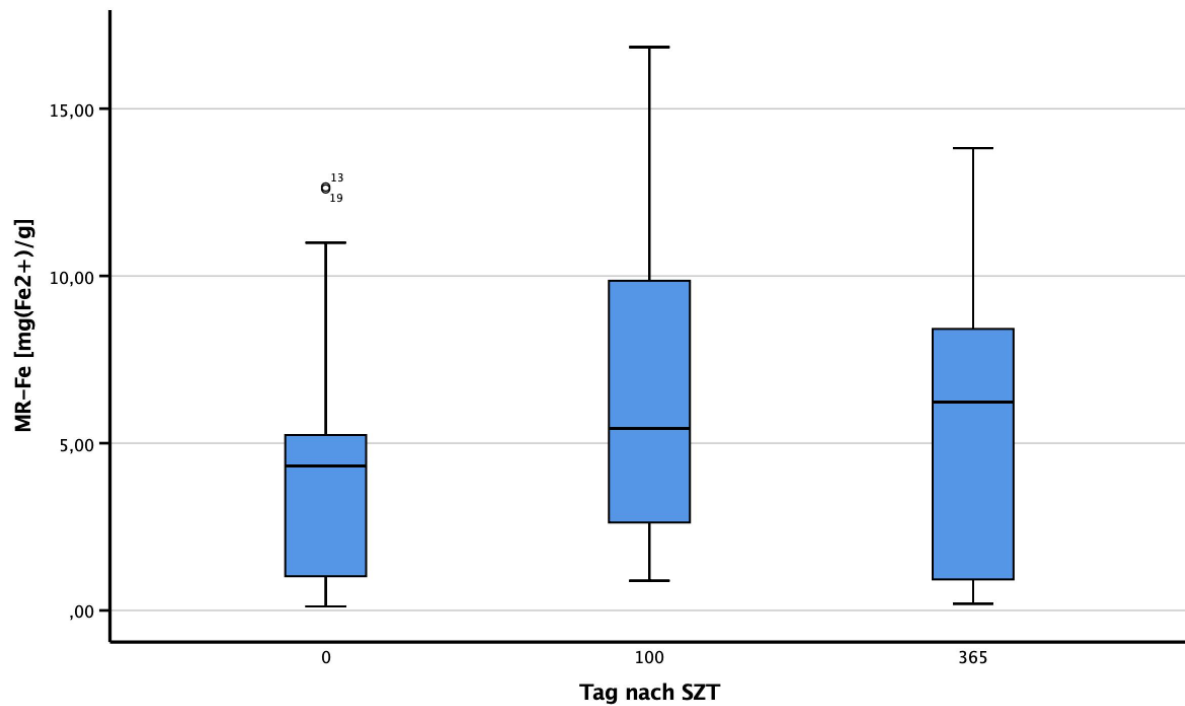
Beim Vergleich der Parameter wurden die mittleren Ränge anhand eines *Wilcoxon*-Tests von jeweils zwei Zeitpunkten miteinander verglichen; relevante Ergebnisse sind in Tabelle 8.4 aufgelistet. Die Differenzen in der Summe der Patientenzahlen ergeben sich aus „Bindungen“, wenn mehrere absolute Differenzen den gleichen Rang bekommen. Zum Vergleich der Mittelwerte, die den Berechnungen zugrunde lagen, wurde die Tabelle 8.3 herangezogen.

Es ließen sich signifikant höhere Ränge für MR-Fe sowie SF am Tag 100 nach SZT nachweisen, während das CrP zeitgleich signifikant niedrigere Ränge zeigte. Der höchste SF-Mittelwert wurde am Tag 100 bestimmt, die danach folgende Abnahme war signifikant.

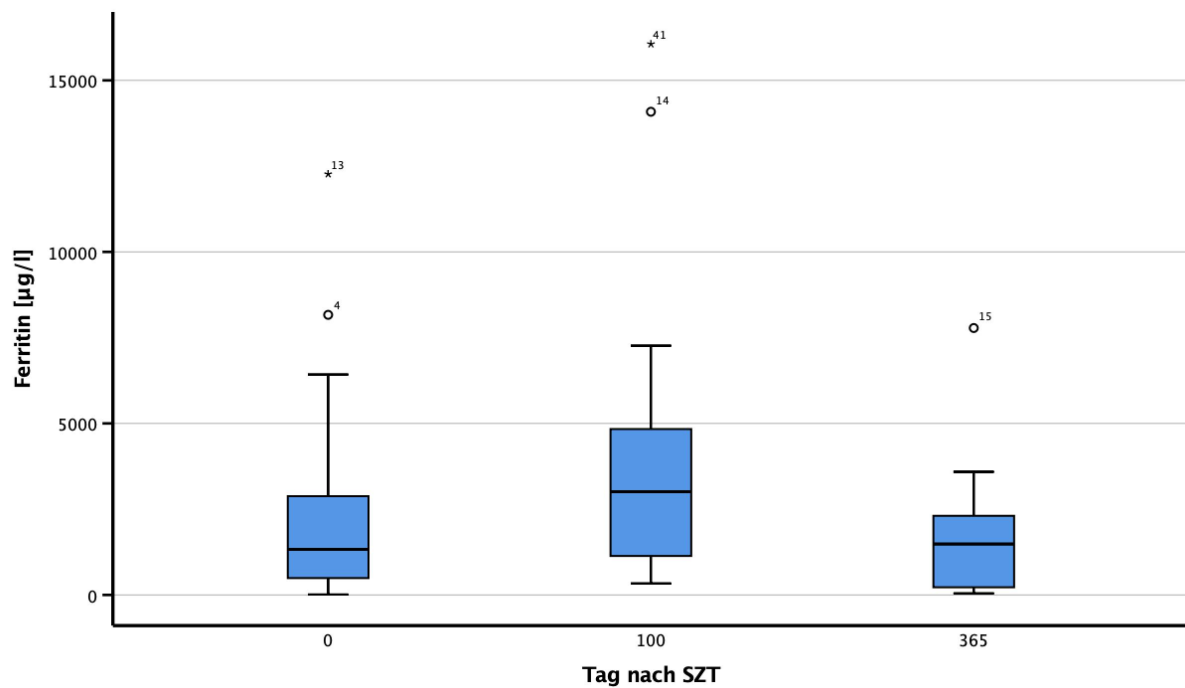
---

<sup>1</sup>vgl. mit Tabelle E.2, im Anhang S. XXXI, zur Definition der Schweregrade.

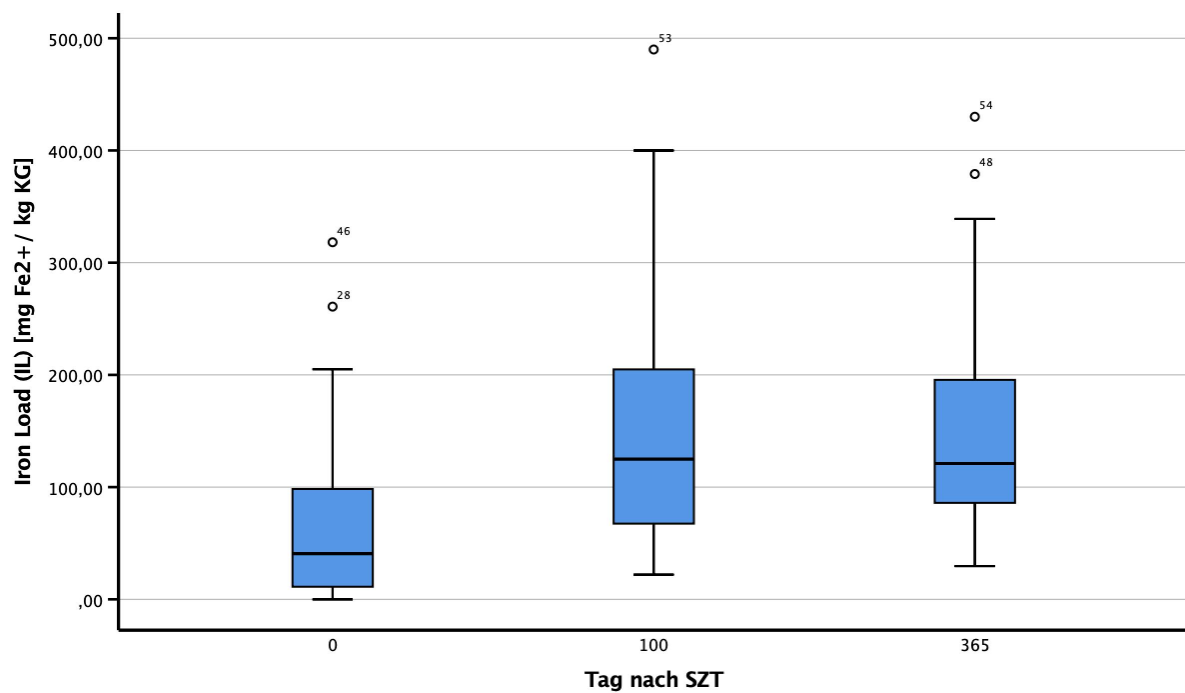
<sup>2</sup>CrP > 7,5 mg/l



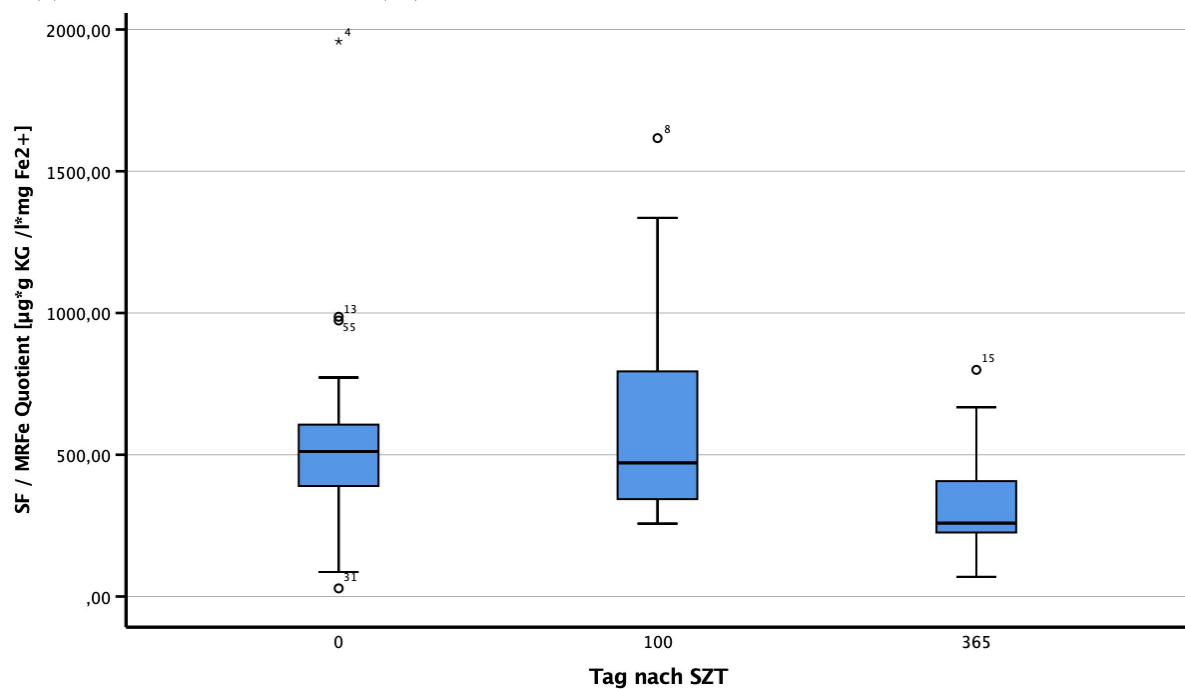
(a) Boxplots zur abgeschätzten Eisenkonzentration mittels MR-Relaxometrie (MR-Fe).



(b) Boxplots der Ergebnisse der Serum Ferritin (SF)-Bestimmungen.



(c) Boxplots zur „Iron Load“ (IL), der gewichtsadaptierten Eisenbelastung durch Transfusionen.



(d) Boxplots der Quotienten von SF zu MR-Fe.

Abb. 8.4 (a)-(d) Darstellung der erhobenen Parameter gruppiert nach den drei Zeitpunkten (Tag 0, Tag 100, Tag 365) in der Verlaufsbeobachtung von N = 23 Patienten. Den Boxplots lässt sich neben dem Median der Stichprobe (mittiger Balken innerhalb der Boxen) die Streubreite Daten anhand der Ausdehnung der Boxen (1. bis 3. Quartil) sowie der „Whisker“ (1,5-facher Interquartilabstand) entnehmen. Sogenannte „Ausreißer“ sind als außerhalb liegende Messpunkte abgebildet.

Tabelle 8.3 Darstellung der Ergebnisse im longitudinalen Verlauf, gruppiert nach den drei definierten Zeitpunkten der Messung (Tag 0, Tag 100, Tag 365). N = 23 Patienten. <sup>a)</sup> *Initiale Messung vor SZT*; <sup>b)</sup> *Gesamtbelastung an Eisen*; <sup>c)</sup> *Abschätzung der Eisenkonzentration (LIC) nach Angelucci et al.*; <sup>d)</sup> *Abschätzung der LIC nach Wood et al.*; <sup>e)</sup> *Ferritin*; <sup>f)</sup> *C-reaktives Protein*; <sup>g)</sup> *Quotient aus SF zu MR-Fe*

Mittelwert der Parameter (Min. - Max. Wert)	Tag 0 <sup>a)</sup>	Tag 100 nach SZT	Tag 365 nach SZT
<b>Gesamtzahl an Transfusionen</b>	11,35 (0 – 35)	21,87 (2 – 49)	24,26 (4 – 55)
<b>IL („iron load“) <sup>b)</sup></b> in [mg Fe <sup>2+</sup> /kg]	77,5 (0,0 – 318,2)	156,8 (22,0 – 490,0)	161,4 (29,6 – 430,0)
<b>eLIC („estimated Liver Iron Concentration“) <sup>c)</sup></b> in [mg Fe <sup>2+</sup> /g]	7,48 (0,0 – 30,02)	14,79 (2,08 – 46,23)	15,23 (2,79 – 40,57)
<b>MR-Fe <sup>d)</sup></b> in [mg Fe <sup>2+</sup> /g]	4,46 (0,12 – 12,66)	6,39 (0,89 – 16,84)	5,60 (0,20 – 13,82)
<b>SF <sup>e)</sup></b> in [μg/l]	2521 (14 – 12268)	3986 (335 – 16060)	1622 (46 – 7780)
<b>CrP <sup>f)</sup></b> in [mg/l]	19,4 (2,0 – 227,0)	4,2 (2,0 – 27,6)	6,3 (2,0 – 55,3)
<b>SF/MR-Fe - Quotient <sup>g)</sup></b> in $\left[ \frac{\mu\text{g} \cdot \text{g}}{\text{l} \cdot \text{mg Fe}^{2+}} \right]$	549,69 (28,87 – 1958,27)	730,75 (257,19 – 4119,88)	314,45 (69,28 – 799,59)

Dieser Trend trat bei MR-Fe ebenfalls auf, war jedoch bei der vorliegenden Stichprobengröße und Streubreite der Messungen nicht signifikant. Die CrP-Ränge waren zudem seit der SZT rückläufig, wenn auch nur die Reduktion von Tag 0 zu Tag 100 signifikant war. Auch hier muss die stark reduzierte Aussagekraft des Tests zwischen Tag 100 und 365 bei zahlreichen Bindungen (insgesamt 13) und den verbleibenden vier Patienten für die negativen Ränge bzw. acht Patienten bei positiven Rängen berücksichtigt werden. In Generalized Estimating Equations (GEE) konnte gezeigt werden, dass die MR-Fe Messungen unter Berücksichtigung des Einflusses der wiederholten Messung nicht signifikant von den CrP-Messungen abhängig waren ( $p = 0,39$ ). Der Einfluss des Messzeitpunktes war hingegen signifikant bei  $p = 0,02$ .

Veränderungen am *SF / MR-Fe* Quotienten sowie der Korrelation

In Abb. 8.4 (d) kommt noch der *SF / MR-Fe* Quotient zur Darstellung; der Tabelle 8.3 lassen sich die zugehörigen Mittelwerte entnehmen. Der Mittelwert aus den 23 Berechnungen dieses Quotienten erhöhte sich von Tag 0 zu Tag 100 und war danach auf das niedrigste Niveau rückläufig. Der Median der Messungen wurde hingegen kontinuierlich kleiner, wie es in den Boxplots zu sehen ist. Vereinzelte, sehr hohe Quotienten, bewirkten dieses Bild, das auf eine schiefe Gesamtverteilung bzw. eine sehr dichte Verteilung unteren

Tabelle 8.4 Vergleich der Mittelwerte der einzelnen Parameter an den drei Messzeitpunkten im *Wilcoxon*-Test. N = 23 Patienten. \* *signifikant auf definiertem Signifikanzniveau*; \*\* *nicht signifikant*

Parameter	Zeitpunkt Gruppe 1	Zeitpunkt Gruppe 2	Positive Ränge: Mittlerer Rang (Rangsumme); Zahl der Patienten	Negative Ränge Mittlerer Rang (Rangsumme); Zahl der Patienten	<i>z</i>	<i>p</i>
<b>MR-Fe</b>	0	100	13,88 (222,0) N = 16	7,71 (54,0) N = 7	2,56	0,01*
<b>SF</b>	0	100	13,20 (198,0) N = 15	7,86 (55,0) N = 7	2,32	0,02*
<b>CrP</b>	0	100	10,25 (41,0) N = 4	9,93 (149,0) N = 15	-2,17	0,03*
<b>MR-Fe</b>	100	365	10,06 (80,5) N = 5	13,03 (195,5) N = 18	-1,73	0,08**
<b>SF</b>	100	365	3,0 (6,0) N = 21	12,86 (270,0) N = 2	-4,02	<0,001*
<b>CrP</b>	100	365	5,75 (46,0) N = 8	8,00 (32,0) N = 4	-0,55	0,58**

50% der Messwerte (kleiner als der Median) hindeutete. Als Ursache kommen hier sehr hohe „Ausreißer“ des SF, z.B. durch eine Assoziation mit Entzündungen in Betracht: Bei SF fiel generell eine große Varianz auf. Insbesondere am Tag 100 lagen sehr große SF-Messwerte vor, sodass hier auch der Quotient am höchsten war. Große MR-Fe Messungen würden hingegen den Quotienten verringern.

Weiterhin wurde die nicht-parametrische Korrelation nach *Spearman* von SF und MR-Fe an diesen drei Zeitpunkten berechnet und verglichen (Tabelle 8.5). Für alle drei Zeitpunkte zeigte sich eine starke, signifikante Korrelation. In der Zeit der stärksten Entzündungsreaktionen nach der SZT war die Korrelation geringer und es zeigte sich der größte *SF / MR-Fe* Quotient.

Tabelle 8.5 Nicht-parametrische Korrelationen nach *Spearman* zwischen Serum Ferritin (SF) und MR-Fe zu den drei definierten Zeitpunkten im Verlauf der Stammzelltransplantation (SZT). N = 23 Patienten. \* *Signifikanter Wert auf definiertem Signifikanzniveau*.

Zeitpunkt	Tag 0 (vor SZT)	Tag 100	Tag 365
<b>Spearman's <math>\rho</math></b> zwischen SF und MR-Fe	0,839	0,673	0,781
<b><i>p</i> - Wert</b>	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*
N = 23			



---

### 8.3.3 Einfluss von Entzündungsreaktionen im Verlauf

Bei den prospektiv untersuchten 23 Patienten waren im Verlauf häufig noch weitere Messungen verfügbar. Hierzu gehörten insbesondere regelmäßige Blutentnahmen mit SF- sowie CrP-Bestimmung. Eine Auswertung erfolgte für jeden Patienten mit diesen zusätzlichen Messzeitpunkten in separaten Verlaufsgrafiken. Eine typische Verlaufsgrafik ist in Abb. 8.5 zu finden und soll nachfolgend im Detail vorgestellt werden. Wie die Boxplots der drei Zeitpunkte schon vermuten ließen, waren kurzzeitige Anstiege von SF und CrP bei allen Patienten nach der Transplantation zu verzeichnen. Sie waren jedoch im Anschluss rückläufig und konnten nicht mit erhöhten MR-Fe Messungen in Verbindung gebracht werden. Diese Anstiege spielten sich meist innerhalb der ersten 100 Tage nach SZT ab. Kam es danach noch zu Komplikationen (z.B. Infektionen oder GvHD), zeigten sich erneut ähnliche Anstiege von SF und CrP.

In Abb. 8.5 lässt sich der Verlauf einer Patientin nachvollziehen, die mit 18 Jahren eine allogene SZT aufgrund einer AML erhielt. Diese Patientin entwickelte ein Rezidiv, das 50 Monate später erneut mittels allogener SZT therapiert wurde. Im oberen Diagramm wird aus der Zahl der Transfusionen ersichtlich, dass der stärkste Transfusionsbedarf im Zeitraum der Transplantationen lag. Die mittels MR-Fe abgeschätzte LIC stieg in diesem Zusammenhang am stärksten an. Zwischen beiden Transplantationen war MR-Fe allerdings rückläufig, wie es aus dem Verlauf zu den drei Zeitpunkten (Tabelle 8.3) deutlich wird. Das untere Diagramm zeigt sowohl SF als auch CrP-Messwerte, die diese eher kontinuierlichen Verläufe des oberen Diagramms nicht reproduzieren. Es fallen vielmehr kurzzeitig hohe Anstiege der beiden Parameter direkt nach der SZT auf, die sich im Verlauf wieder normalisierten. Die höchsten CrP-Werte sind innerhalb der ersten 30 Tage nach SZT zu beobachten; die anschließende Normalisierung erfolgte deutlich schneller als bei SF.

## 8.4 Weitere Ergebnisse

Nachfolgend sollen zusätzlich bisher nicht publizierte Ergebnisse vorgestellt werden.

### T2\*-Grenzwert für eine relevante Eisenüberladung (IO)

Zum Vergleich der Genauigkeit in der Klassifikation einer starken Eisenüberladung (IO) mittels MRT wurde ein Receiver-operating-characteristic (ROC)-Diagramm von SF und korrespondierenden T2\*-Werten bei den insgesamt  $N = 58$  Patienten erstellt und ist als Abb. 8.6 nachfolgend zu finden.

In diesem zeigt sich eine äußerst gute Übereinstimmung zwischen beiden Methoden für die vorliegende Patientengruppe: Die Area-under-the-curve (AUC) des Diagramms war nahe 1 ( $AUC = 0,96$ ; 95%-KI:  $\{0,92 \dots 0,99\}$ ;  $p < 0,01$ ;  $N = 58$  Patienten). Weiterführend wurde ein Grenzwert für T2\* berechnet, bei dem die höchste Übereinstimmung zum

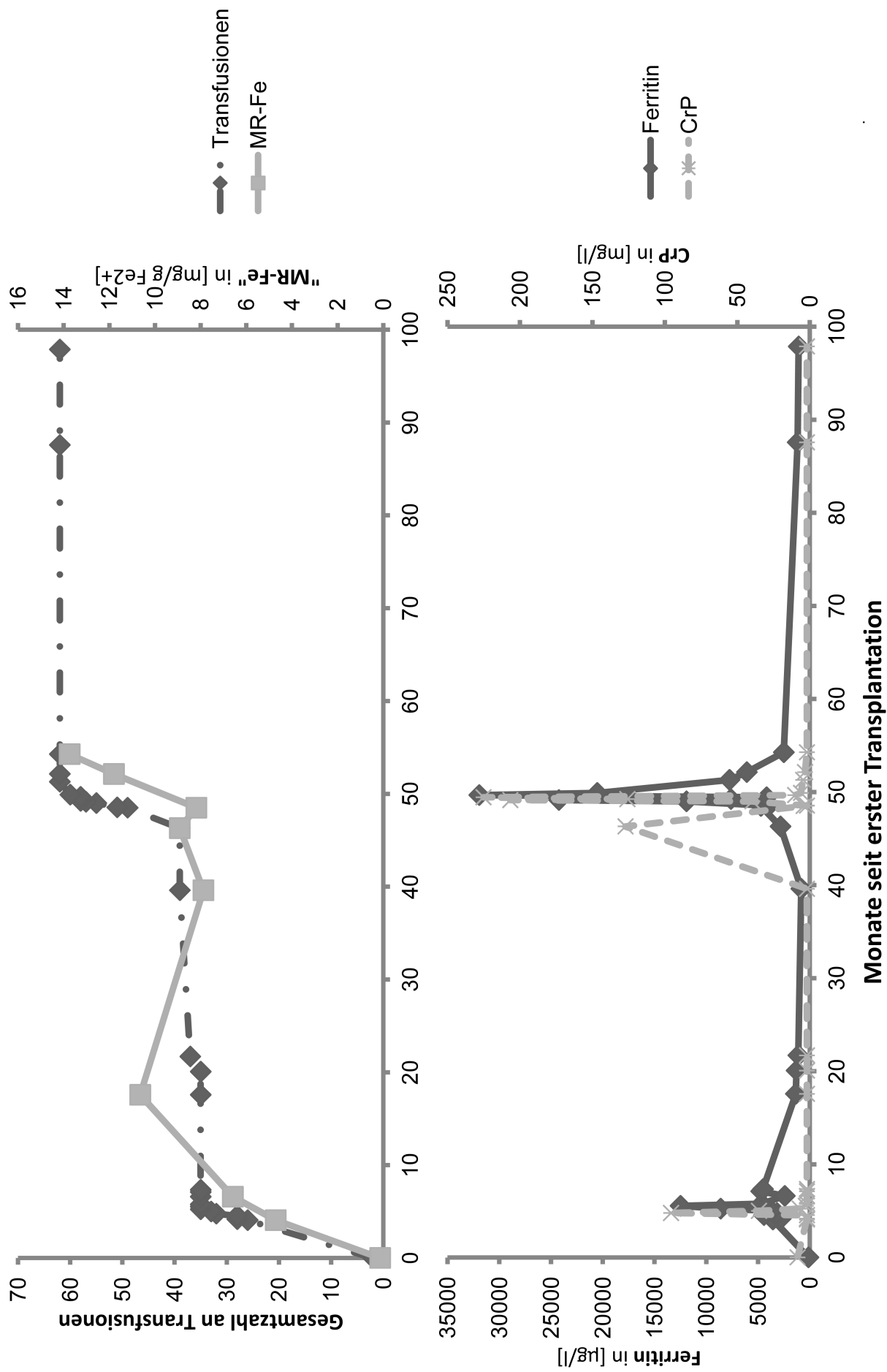


Abb. 8.5 Exemplarische Verlaufsgrafik von einer Patientin, die aufgrund einer AML mit 18 Jahren initial allogenen stammzelltransplantiert wurde. Nach Entwicklung eines Rezidives wurde die Patientin nach 50 Monaten erneut transplantiert. Dargestellt wird im oberen Diagramm das MR-Fe (graue Quadrate, durchgängige Linie) und die Zahl der Transfusionen (schwarze Rhomben, unterbrochene Linie); im unteren Diagramm werden SF (schwarze Rhomben, durchgängige Linie) und CrP-Werte (hell-graue Sterne, gestrichelte Linie) zum Vergleich gegenübergestellt.

SF-Grenzwert vorlag. Die Berechnung erfolgte mittels „*Youdens Index*“ ( $J$ ). Dabei entsprachen T2\*-Zeiten von 5,59 ms der Grenze von SF > 1000  $\mu\text{g/l}$  am besten. Kürzere Echozeiten deuteten folglich auf eine relevante Eisenüberladung hin (Sensitivität = 96%; Spezifität = 83%).

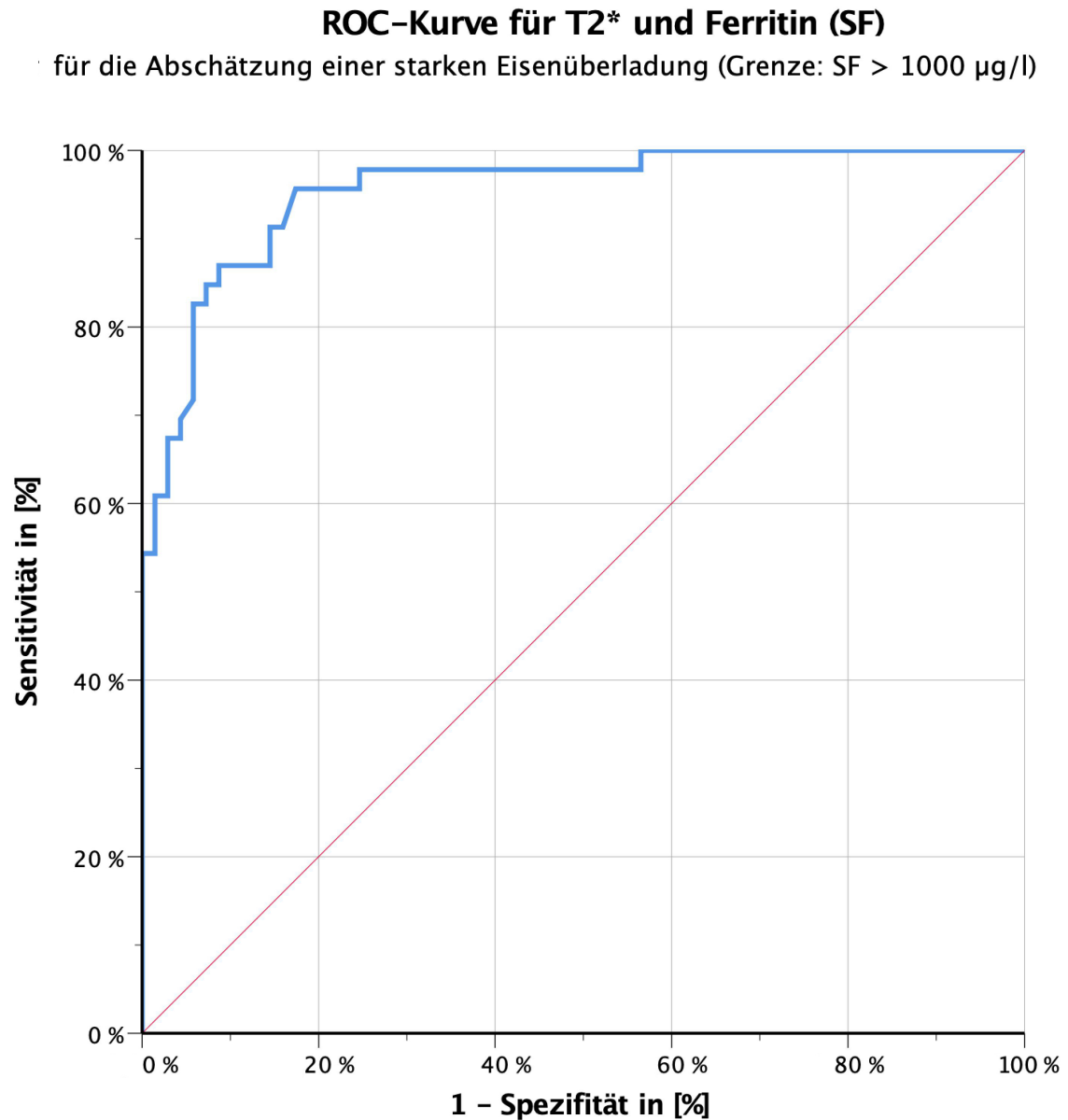


Abb. 8.6 Das ROC-Diagramm stellt die *Richtig-positiv-Rate* (Sensitivität, in [%]) die *Falsch-negativ-Rate* (1 - Spezifität, in [%]) der MR-Relaxometrie (T2\*) im Vergleich zum Serum Ferritin (SF) gegenüber. Es zeigt sich eine sehr gute Übereinstimmung beider Methoden in der Klassifikation einer Eisenüberladung (IO) bei einer angenommenen Grenze von SF > 1000  $\mu\text{g/l}$ : Der blaue Graph zeigt eine Area-under-the-curve (AUC) = 0,96 / 96 % an (95%-KI: {0,92 ... 0,99};  $p < 0,01$ ; N = 58 Patienten). Eine AUC = 0,5 bzw. 50 % wird durch die rote Referenzlinie dargestellt.

## 9 Publiizierte Originalarbeiten

### 9.1 Schriftliche Veröffentlichungen

Wurschi, G. W.; Kentouche, K.; Herrmann, K.-H.; Krumbein, I.; Nold, M.; Beck, J. F.; Reichenbach, J. R. & Mentzel, H.-J. 2019. *Evaluation of liver tissue by ultrasound elastography and clinical parameters in children with multiple blood cell transfusions*. Pediatric Radiology. 49(7), 897-905. <https://doi.org/10.1007/s00247-019-04382-9>

Wurschi, G. W.; Mentzel, H.-J.; Herrmann, K.-H.; Krumbein, I.; Beck, J. F.; Reichenbach, J. R. & Kentouche, K. 2019. *MRI as an alternative to serum ferritin for diagnosis of iron overload in children in the context of immune response after stem cell transplantation*. Pediatric Transplantation. [ePub: 00:e13583. <https://doi.org/10.1111/petr.13583>].

Die Publikationen sind im Anhang B ab S. IV zu finden.

### 9.2 Kongressbeiträge

Datum	Veranstaltung / Ort	Titel
02.03.2017	ECR <sup>1</sup> , Wien	<i>Evaluation of ultrasound elastography and MR-susceptometry for the estimation of iron overload in children after blood cell transfusion<sup>2</sup></i> [Abstract:] Insights Imaging, 8 (Suppl 1): S1–S583. DOI:10.1007/s13244-017-0546-5
27.05.2017	RöKo <sup>3</sup> , Leipzig	<i>Vergleich nicht-invasiver Methoden zur Verlaufsbeurteilung der Eisenbeladung der Leber bei transfusionspflichtigen Kindern und Jugendlichen</i> [Abstract:] Fortschr Röntgenstr 2017; 189(S 01): S1-S124 DOI:10.1055/s-0037-1600319
23.09.2017	Jahrestagung DGKJ / GPR <sup>4</sup> , Köln	<i>Vergleich nicht-invasiver Methoden zur Verlaufsbeurteilung der Eisenbeladung der Leber bei transfusionspflichtigen Kindern und Jugendlichen</i> [Abstract:] Monatsschr Kinderheilkd (2017). 165(Suppl 3): 181. DOI:10.1007/s00112-017-0358-1

Die Abstracts der Kongressbeiträge sind im Anhang angefügt (Abschnitt C, S. XXII).

---

<sup>1</sup>European Congress of Radiology

<sup>2</sup>Im Rahmen des „Rising Stars“-Programms

<sup>3</sup>Deutscher Röntgenkongress

<sup>4</sup>Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin sowie der Gesellschaft für Pädiatrische Radiologie

# 10 Diskussion

In der nachfolgenden Diskussion werden sämtliche Ergebnisse der einzelnen Teilabschnitte im Zusammenhang betrachtet und interpretiert. Es erfolgt daher keine gesonderte Diskussion der einzelnen Abschnitte. Aufgrund der Überschneidungen zwischen einzelnen Teilaspekten der Arbeit sollen zunächst die allgemeinen Ergebnisse für die jeweiligen Methoden interpretiert werden. Im Vergleich werden die unterschiedlichen Messmethoden aus den einzelnen Teilen der Arbeit dann zusammengeführt und diskutiert. Limitationen der Arbeit werden übergreifend in einem separaten Abschnitt betrachtet.

## 10.1 MR-Relaxometrie

### 10.1.1 Eisenmessung mittels T2\*-Sequenzen

Die MR-Relaxometrie ist ein vielfach untersuchtes und bestätigtes Verfahren zur nicht-invasiven Abschätzung der „Liver Iron Concentration“ (LIC). In verschiedenen Forschungsgruppen wird die T2\*-Relaxationszeit aus GRE-Sequenzen bevorzugt angewendet (Vag et al. 2011, Paisant et al. 2017). Diese sind im Vergleich zu „*Spin-Echo*“-Sequenzen sensibler für Feldinhomogenitäten, da Dephasierungen, die bspw. durch gespeichertes Eisen auftreten, nicht durch einen 180° Refokussierungspuls ausgeglichen werden (Gandon et al. 2004, Chavhan et al. 2009). Wood et al. veröffentlichten hierzu im Jahr 2005 eine Arbeit, nach der T2\*-Zeiten zur Berechnung der LIC herangezogen werden können (Wood et al. 2005). Diese Publikation dient vielen weiteren Arbeiten, wie auch unserer, als Grundlage für weitere Untersuchungen und Modifikationen. Entsprechend der guten Datenlage hinsichtlich der Übereinstimmung zwischen histologisch gesicherter LIC und daran kalibrierter Umrechnungen zum MR-Fe, konnte die relaxometrische Abschätzung des MR-Fe als Referenz, im Vergleich zu SF oder dem „HepScore“, angesetzt werden (Wood et al. 2005, Schönnagel et al. 2013, Runge et al. 2016, Quinn und St. Pierre 2016, Paisant et al. 2017, Xiao et al. 2017).

Mit dieser Arbeit konnte eine Eisenakkumulation der Leber durch die Transfusion zahlreicher Erythrozytenkonzentrate (EKs) bestätigt werden. Es ist belegt, dass die Messergebnisse auch mit nicht baugleichen MR-Tomographen reproduzierbar sind (Rose et al. 2006, Tanner et al. 2006, Garbowski et al. 2014). Für die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse ist jedoch die Auswahl oder ggf. Adaptation einer passenden Sequenz für den untersuchten bzw. erwarteten Wertebereich wichtig: Wird bei einer hohen LIC eine zu lange TE gewählt, kann der Signalabfall mitunter so stark sein, dass kein ausreichendes Signal mehr

---

messbar ist. Anders herum bewirkt eine zu kurze TE bei einer niedrigen LIC einen zu geringen Signalabfall, was die Sensitivität verringert (Vag 2013). Die bisher beschriebenen Herangehensweisen decken großteils den Bereich hoher Eisenspiegel ab (bei  $T2^* < 10$  ms). Für die angestrebte Messung niedrigerer LIC bei den Verlaufsmessungen dieser Arbeit mussten neue Sequenzen angepasst werden.

Im vorausgehenden Vergleich konnte die Übereinstimmung der Ergebnisse bei verschiedenen Sequenzparametern mit den Parametern von *Wood et al.* bestätigt werden. Dies galt auch für den diagnostisch relevanten Bereich niedrigerer Eisenspiegel. Die LIC konnte folglich sowohl bei akut hoher Eisenbeladung, als auch bei deutlich niedrigeren Spiegeln mit längeren Echozeiten ( $> 10$  ms), im Verlauf bestimmt werden. Dieser Aspekt ist hinsichtlich der Eignung zur Früherkennung von Transfusionsschäden mittels MRT relevant, da das Erkennen einer Eisenüberladung hiermit zeitiger möglich wird.

Für die Beurteilung der LIC-Messung ist die Berücksichtigung der morphologischen Struktur des Leberparenchyms wichtig. Einzelne Patienten der Studie wiesen eine starke Inhomogenität des Leberparenchyms auf, die es bei der Wahl der ROI für die  $T2^*$ -Messungen zu beachten galt. Die Positionierung der ROI wurde im internen Befund-Archivierungssystem („PACS“) dokumentiert, um eine möglichst identische Messung im Verlauf bzw. im Vergleich zur SWE zu ermöglichen. Dies stellt zugleich einen bedeutenden Vorteil der  $T2^*$ -Messung mit GRE-Sequenzen dar: Da Relaxationsraten aus einer größeren Region für die Analyse verwendet werden bzw. die Suszeptibilitätssprünge des Parenchyms durch unterschiedliche Eisenkonzentrationen in der  $T2^*$ -Wichtung als Intensitätsschwankungen erkennbar sind, kann die ROI entsprechend groß gewählt werden. Kleinere Inhomogenitäten der Eisenverteilung fallen dadurch weniger ins Gewicht. Hingegen ist bei einer Leberbiopsie die Eisenverteilung im äußerst beschränkten Raum des Stichkanals bestimmend, sodass zwischen einzelnen Biopsien eines Patienten Schwankungen der Eisenkonzentration im Mittel von  $> 25$  % berichtet werden (Villeneuve et al. 1996, Kolnagou et al. 2009).

Im Rahmen der Grunderkrankungen der betrachteten Patientenpopulation sind wiederholte MR-Aufnahmen des Abdomens häufig nötig. In diesem Kontext ist es durchaus empfehlenswert, eine  $T2^*$ -Lebereisenmessung in größeren Abständen (1-2 mal pro Jahr) durchzuführen. Diese längerfristige Beobachtung wäre ein gutes Instrument zur Einschätzung des Leber-Status und eventuell nötiger therapeutischer Konsequenzen (bspw. einer Chelator-Therapie) ohne große Belastung der Patienten. Ein dafür möglicher Grenzwert wird im nächsten Abschnitt 10.1.2 vorgestellt.

### 10.1.2 Grenzwert für eine Eisenüberladung (IO)

Transfusionen sind bei Erkrankungen des blutbildenden Systems häufig unumgänglich und eine hohe Eisenbelastung muss in gewissen Teilen in Kauf genommen werden. Bei der Bestimmung eines Grenzwertes bietet sich für eine sinnvolle Größenordnung erst die Indikation einer möglichen therapeutischen Konsequenz an. Diese ist bspw. für die Therapie einer chronischen Eisenüberladung ab  $SF > 1000 \mu\text{g/l}$  bei Patienten mit einer Hämochro-

---

matose gegeben (Knovich et al. 2009). Weiterhin können unklare Werte von  $SF > 1000 \mu\text{g/l}$  eine Indikation zur Leberbiopsie sein (Ong et al. 2016), weshalb die Bestimmung eines  $T2^*$ -Vergleichswertes in Bezug auf diese beiden Fragestellungen nahelag.

Es konnte gezeigt werden, dass  $T2^*$ -Zeiten von weniger als 5,59 ms bei einer sehr guten Übereinstimmung, wie  $SF$  oberhalb von  $1000 \mu\text{g/l}$ , auf eine starke Eisenüberladung hindeuten. Für die MR-relaxometrische Messung der „relevanten“ Eisenüberladung bei Kindern und Jugendlichen ist bisher<sup>1</sup> in der Literatur kein Vergleichswert zu finden. Eine beginnende Eisenüberladung ist für  $T2^*$  unterhalb von 10 ms beschrieben (Henninger et al. 2012). Eine Chelat-Therapie bereits für diesen Bereich anzusetzen, kommt jedoch einer Übertherapie gleich und ist aufgrund der relevanten Nebenwirkungen und Kosten nicht indiziert. Echozeiten (TE) in dieser Größenordnung waren sehr häufig in der untersuchten Patientenpopulation zu finden und daraufhin veranlasste Chelat-Therapien wären für Patienten belastend. Die Grenze von  $SF > 1000 \mu\text{g/l}$  liegt ebenfalls deutlich über den alters- und geschlechtsabhängigen Normalwerten (bis  $320 \mu\text{g/l}^2$ ), was die Spezifität erhöht. Anhand der  $T2^*$ -Werte ist zwar eine Abschätzung der LIC möglich (Wood et al. 2005), allerdings ist die direkte Anwendung eines Grenzwertes für die zugrunde liegende  $T2^*$ -Zeit in der klinischen Anwendung praktikabler und vermeidet theoretisch noch mögliche Fehler innerhalb dieser Konversion. Die Umrechnung soll zur Orientierung hier zusätzlich angegeben werden: Der berechnete Grenzwert würde nach der Abschätzung von Wood et al. einem MR-Fe von  $4,15 \frac{\text{mg Fe}^{2+}}{\text{g}}$  entsprechen.

Der Grenzwert von  $T2^* < 5,59 \text{ ms}$  kann entsprechend der Bezugsgröße  $SF > 1000 \mu\text{g/l}$  ähnliche Aussagen treffen, sodass die Initiierung einer Chelator-Therapie für  $T2^* < 5,59 \text{ ms}$  analog zu  $SF > 1000 \mu\text{g/l}$  denkbar wäre. Zumindest sind  $T2^*$ -Werte in diesem Bereich bei einer erhöhten Eisenaufnahme abzuklären. Damit kann diese Grenze z.B. genutzt werden, um bei routinemäßigen Verlaufskontrollen nach SZT mittels MRT einen Hinweis für eine Eisenüberladung zu erhalten oder im Zuge von Entzündungsreaktionen in unklaren Fällen (u.a. bei Infektionen, GvHD) die Diagnose mittels  $SF$  zu unterstützen.

## 10.2 Serum Ferritin (SF)

### 10.2.1 Einfluss von Entzündungsreaktionen

Es zeigte sich in verschiedenen Tests eine signifikante Assoziation von  $SF$  zu CrP. Bei MR-Fe war dieser Einfluss hingegen nicht signifikant.  $SF$  war regelmäßig innerhalb der ersten Wochen nach der Transplantation, als Zeichen einer Immunreaktion, erhöht. Dies deckt sich mit den Erkenntnissen zur Aktivierung des Immunsystems nach einer SZT (Sreedharan et al. 2006, Ruscitti et al. 2017). Im Zusammenhang mit Infektionen oder Komplikationen der SZT, wie GvHD und VOD, waren erhöhte  $SF$ -Werte zu verzeichnen.

---

<sup>1</sup>Stand: September 2019

<sup>2</sup>Referenz: Normalwerte des Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik, UKJ; Stand 01/2016

---

Geringfügige Erhöhungen von SF deuten selten auf eine relevante Eisenüberladung hin und sind eher im Zuge der sog. „Akute-Phase-Reaktionen“ bei Entzündungsreaktionen zu erklären (Kohgo et al. 2008). Die Definition der Eisenüberladung für  $SF > 1000 \mu\text{g/l}$  hat sich deswegen gegenüber den niedrigeren altersabhängigen Normwerten auch in dieser Studie bewährt.

Abseits dieser Entzündungen schien SF in der vorliegenden Patientengruppe mit hoher Eisenbelastung für die Bestimmung einer Eisenüberladung geeignet zu sein, zumal auch in der ROC-Analyse eine sehr gute Übereinstimmung mit der MR-Relaxometrie gezeigt werden konnte. Da die MR-Messungen häufig als elektive (Kontroll-) Untersuchung durchgeführt wurden, fanden diese meist abseits von starken Immunreaktionen oder Entzündungen, wenn nicht sogar nach Remission, statt. Die zugehörigen SF-Werte zeigten entsprechend eine gute Übereinstimmung, da entzündliche Einflüsse in diesen Phasen gering waren (normwertiges CrP).

### *SF / MR-Fe Quotient*

Der vorgestellte Quotient aus SF und MR-Fe dient dem Vergleich der Entwicklung der beiden Parameter im Verlauf. Bei einer idealen Übereinstimmung von SF und MR-Fe würde der Quotient zwischen den einzelnen Zeitpunkten keine signifikanten Änderungen erfahren und die Korrelation der beiden Parameter müsste unverändert sein. Eine deutliche Veränderung des Quotienten deutet auf Einflussfaktoren hin, die sich besonders auf eine der beiden Größen auswirken.

Eine derartige Veränderung des Quotienten war, im Sinne einer Erhöhung, nach der Transplantation festzustellen. Diese können durch einen stärkeren Anstieg von SF als von MR-Fe erklärt werden. In den Verlaufsgrafiken wurden innerhalb der ersten Wochen nach SZT die höchsten CrP- und SF-Werte aufgezeichnet, das CrP normalisierte sich jedoch deutlich schneller (vgl. Abb. 8.5). Aus diesem Grund ist die isolierte Betrachtung des mittleren CrPs von Tag 0 und Tag 100 in dieser Fragestellung nicht zielführend, da die zwischenzeitliche Erhöhung nicht akkurat erfasst wird und SF im Vergleich länger erhöht blieb. Folglich war SF am Tag 100 in der isolierten Betrachtung der Mittelwerte am höchsten, obwohl das CrP dort im Vergleich zum Tag 0 rückläufig war. Mit den detaillierten Verlaufsgrafiken ist eine plausiblere Zuordnung möglich.

In den nicht-parametrischen Korrelationen konnte ein ähnlicher Verlauf nachvollzogen werden: Die höchste Korrelation von SF und MR-Fe zeigte sich, als der Quotient am niedrigsten war. Da gezeigt werden konnte, dass MR-Fe keine Assoziation zum CrP aufweist, sind diese Veränderungen im Quotienten wahrscheinlich auf die Abhängigkeit des SFs vom CrP zurückzuführen. Die höheren Quotienten waren im Zeitraum der stärksten Entzündungsreaktionen beobachtet worden, was sich durch höhere SF-Werte (Zähler des Quotienten) erklären lässt. Auch die Korrelation war in dieser Phase der passageren Entzündungsreaktion nach der SZT am niedrigsten.

Die beschriebene Dynamik des SFs nach der SZT lässt sich mit diesem Verlauf bestätigen.



---

Zusammengefasst lässt sich damit die Beobachtung aus den individuellen Verlaufsgrafiken bestätigen, dass SF direkt nach der Transplantation aufgrund der vorherrschenden Immunreaktionen den Eisenspiegel nicht akkurat widerspiegelt. Die Effekte werden im späteren Verlauf geringer und so ergibt sich dort die bessere Übereinstimmung der beiden Methoden.

### 10.2.2 Vergleich mit MR-Fe

Die Übereinstimmung von SF mit der LIC bzw. T2\* wird in der Literatur sehr heterogen bewertet und hängt stark vom gewählten Studiendesign ab. Es wird teilweise von sehr guten Korrelationen berichtet (Alexopoulou et al. 2006, Vag 2013, Chuansumrit et al. 2016, Wood et al. 2017), wobei die Autoren auch mögliche Einflüsse entzündlicher bzw. immunologischer Prozesse einräumten. *Chuansumrit et al.* berichten von einer signifikanten Regression von SF zu T2\* bei 98 Jugendlichen mit Thalassämie, die Anpassungsgüte war jedoch nicht herausragend ( $R^2$  von ca. 0,4). Es muss bei diesen Arbeiten berücksichtigt werden, dass eine Thalassämie eine chronische Pathologie bedeutet und es nicht regelhaft zu derart hohen, akuten Immunreaktionen, wie bei einer SZT, kommt. Die Korrelation ist dadurch möglicherweise relativ gut. Andere Arbeitsgruppen stellen eine sinnvolle Korrelation aufgrund der zahlreichen Einflüsse gänzlich in Frage oder diskutieren sie zumindest sehr kritisch (Argyropoulou et al. 2007, Kolnagou et al. 2009, Knovich et al. 2009, Tsitsikas et al. 2014, Ong et al. 2016, Schaffner et al. 2017).

In unserer Arbeit lag der Fokus auf den genannten Einflussfaktoren und die untersuchte Patientengruppe wies regelmäßig derartige Entzündungsreaktionen nach der SZT auf.

Aufgrund der komplexen Einflussfaktoren und Regulationsprozesse erschien eine Umrechnung zur quantitativen Abschätzung der LIC in diesem Kontext nicht vielversprechend. Dazu hätte sich hinsichtlich der Diagnostik einer Eisenüberladung keine Relevanz ergeben: Verglichen mit SF, erlaubte der ermittelte T2\*-Grenzwert mit ausreichender Genauigkeit eine Klassifizierung von T2\* in erhöhte oder nicht erhöhte Werte.

SF sollte in Anbetracht der Einflussfaktoren vor allem als Verlaufsparemeter und möglichst immer im Zusammenhang mit dem klinischen Erscheinungsbild, Entzündungsparemetern (bspw. CrP) sowie beeinflussenden Nebendiagnosen betrachtet werden. In diesem Zusammenhang waren SF-Verlaufskontrollen in anderen Arbeiten hinsichtlich der Prognose bei Komplikationen oder Rezidiven nach einer SZT sehr aussagekräftig (Or et al. 1987, Ong et al. 2016).

### 10.2.3 Auswirkung von Komplikationen der SZT auf SF

Eine GvHD trat bei sieben Patienten auf, wobei fünf Patienten nach der Transplantation extreme SF-Konzentrationen zeigten, die ein Vielfaches über dem Limit von 1000  $\mu\text{g/l}$  lagen. Dies kann auf die starke, generalisierte Entzündung im Rahmen der GvHD zurückzuführen sein. Derartige Anstiege sind bekannt (Döring et al. 2016). Neben dem

---

Zytokin-vermittelten Anstieg von SF in der Akuten-Phase-Reaktion, ist eine eigenständige Synthetisierung von SF durch aktivierte Makrophagen in dieser Situation bekannt und kann eine mögliche Ursache darstellen (Sreedharan et al. 2006, Knovich et al. 2009, Otroek et al. 2017).

Alle vier Patienten mit einer VOD zeigten ein stark erhöhtes SF ( $> 1000 \mu\text{g/l}$ ) zu diesen Zeitpunkten. Die absoluten Fallzahlen waren für eine verlässliche statistische Korrelation zu gering. Es ist allerdings beschrieben, dass SF im Rahmen einer VOD ansteigen kann (Döring et al. 2016).

### 10.3 Eisenkonzentration und Entzündungsreaktionen im Verlauf

Die Betrachtung der drei Zeitpunkte aus TEIL II erlaubt zwar eine statistische Aufarbeitung der größeren Trends im Verlauf, erfasst jedoch die starken Immunreaktionen nach der SZT nur unvollständig. Die in den Verlaufsdiagrammen beobachteten, zeitgleichen Spitzen von CrP sowie SF innerhalb des ersten Monats nach Transplantation sind dort nicht erfasst. Das CrP normalisierte sich meist innerhalb von diesen ca. 30 Tagen - SF war hingegen noch deutlich länger erhöht. In den Vergleichen der drei Messzeitpunkte waren daher wahrscheinlich auch die höchsten SF-Werte am Tag 100 gemessen worden, während sich die CrP-Werte schon wieder normalisiert hatten. Solche Entwicklungen sind für SF bereits lange bekannt (Or et al. 1987). Erhöhte Werte waren bei *Or et al.* bis ca. drei Monate nach der SZT typisch, während ein längerfristig hohes SF mit späteren Komplikationen oder Rezidiven in Verbindung gebracht wurde.

Diese Zeiträume fanden in der statistischen Auswertung der drei Messpunkte keine Berücksichtigung. Sehr häufige Messungen erschienen hinsichtlich einer deutlichen Darstellung der eher langfristigen Veränderungen der LIC nicht sinnvoll, sodass größere Abschnitte zur Verlaufskontrolle festgelegt wurden. Die MR-Relaxometrie wurde somit erst nach Ende der präventiven Isolation bei Tag 100 routinemäßig durchgeführt. Der Transport zur MR-Untersuchung sowie deren Durchführung hätten ein erhöhtes Infektionsrisiko bedeutet. Blutentnahmen waren hingegen auch innerhalb der ersten Wochen unter Wahrung der Isolation möglich. Die longitudinale Auswertung zu den drei Zeitpunkten (TEIL II) zeigte eine im Verlauf zunehmende Übereinstimmung von SF und MR-Fe, da die initial hohen Entzündungswerte rückläufig waren und SF damit geringeren Einflüssen unterlag. Nichtsdestotrotz gab es MR-Untersuchungen in Assoziation mit erhöhten CrP-Werten im TEIL I der Untersuchungen, wenn die Untersuchungen z.B. während entzündlicher Komplikationen erfolgt waren.

In den Verlaufsgrafiken ließen sich eben diese Zeiträume mit den Ergebnissen der Blutentnahmen individuell betrachten. Eine zusammengefasste Auswertung, ähnlich zu TEIL II, war dabei aufgrund der unterschiedlichen Zeitpunkte nicht möglich. Es zeigte sich bei den einzelnen untersuchten Patienten regelhaft ein starker Anstieg von SF nach der Transplantation, der als Zeichen einer Akuten-Phase-Reaktion auch mit einem stark erhöhten

---

CrP einherging und nicht der Transfusion von EKs zuzuordnen war. Dieses Phänomen ist bekannt und beschrieben (Sreedharan et al. 2006, Ruscitti et al. 2017, Schaffner et al. 2017). Die Bestimmung von SF lässt damit in den ersten 100 Tagen nach Transplantation wahrscheinlich keine validen Rückschlüsse auf eine Eisenüberladung zu. Diese Beobachtung lässt sich mit den, von *Or et al.* beschriebenen, erhöhten SF-Werten innerhalb der ersten drei Monate nach einer SZT vereinbaren (Or et al. 1987). Dieser Zeitraum ist bekannt für Komplikationen, wie eine akute GvHD, einer VOD, Transplantatabstoßungen oder Infektionen mit (opportunistischen) Erregern, die jeweils auch eine Entzündungsreaktion im Körper bedeuten (Imbach et al. 2014, Speer et al. 2019). Im späteren Verlauf korrelierten die Trends von MRT und SF relativ gut, sofern keine weiteren Komplikationen (insbesondere Infektionen, Rezidive oder GvHD) auftraten. Diese Beobachtung deckt sich mit der guten Übereinstimmung der letzten Messzeitpunkte in der ROC-Analyse. Die Anstiege nach den Transplantationen, und auch die meisten Anstiege im Rahmen von Komplikationen, ließen sich hingegen in den Verlaufsdigrammen in simultanen Peaks von CrP und SF von transfusions-bedingten SF-Anstiegen unterscheiden: Diese wären weder zeitlich limitiert und reversibel, noch mit einem erhöhten CrP verbunden gewesen. Die vorübergehenden, steilen Anstiegen von SF sowie CrP innerhalb der ersten 100 Tage, sprechen gegen die kontinuierlich, langsam ansteigende LIC im Rahmen einer Eisenspeicherung - die sich vor allem auch nicht innerhalb kurzer Zeit „von selbst“ normalisieren würde.

Obwohl die Eiseneinlagerung im Körper als prinzipiell irreversibler Prozess diskutiert wird (Argyropoulou und Astrakas 2007, Kohgo et al. 2008, Porter et al. 2015, Milic et al. 2016), gab es in dieser Arbeit Anhalte für eine rückläufige Eisenkonzentration aufgrund der im Verlauf abnehmenden SF- und MR-Fe Messungen. SF und T2\* schätzen die LIC auf zwei verschiedenen Grundlagen unabhängig voneinander ab. Insbesondere die Validität von T2\* ist in der Abschätzung durch Vergleiche mit Biopsien hinreichend belegt (Wood et al. 2005, Henninger et al. 2012, Schönnagel et al. 2013, Vag 2013, Tsitsikas et al. 2014, Quinn und St. Pierre 2016). Damit kann wahrscheinlich von einer tatsächlich verringerten LIC zum letzten Messpunkt im TEIL II (Tag 365) ausgegangen werden. Ob dies einer aktiven Elimination oder einer Regeneration des Leberparenchyms zuzuordnen ist, bzw. ob ferner eine „*restitutio ad integrum*“ möglich wäre, lässt sich daraus jedoch nicht ableiten.

Eine mögliche Ursache der verringerten Eisenkonzentrationen der Leber könnten Menstruationsblutungen bei weiblichen Patienten nach ihrer Menarche sein. Allerdings ermöglichte dieses Studiendesign aufgrund der kleinen Stichproben von passenden Patienten im Verlauf sowie die unterschiedlich hohen Transfusionszahlen bei individuell unterschiedlicher Eisenaufnahme (Kolnagou et al. 2009, Porter et al. 2015) keine validen Rückschlüsse. Ein Verlust durch die Abschlüpfung von intestinalen Epithelzellen und die Herabregulation der zusätzlichen, intestinalen Absorption von Eisen durch Hefcidin sind jedoch mögli-

---

che Ursachen (Ganz und Nemeth 2006). Diese können einer beginnenden Eisenüberladung bei geringem Ausmaß möglicherweise noch entgegen wirken. Hepcidin ist ein hepatisches Peptidhormon und wirkt als Regulator des Eisen-Transportproteins Ferroportin in der Darmmukosa sowie in Makrophagen. Es verhindert durch seine Bindung an Ferroportin den Export von Eisen aus den Epithelzellen der Darmmukosa und wirkt damit hemmend auf die intestinale Eisenresorption (Nemeth et al. 2003, Ganz und Nemeth 2006). Durch einen negativen Feedback-Mechanismus erfolgt eine stärkere Expression von Hepcidin bei hohen Eisenspiegeln und damit eine verringerte intestinale Resorption. Es wird auch als Akute-Phase-Protein im Rahmen von Entzündungsreaktionen verstärkt produziert und verringert damit einerseits die zusätzliche intestinale Resorption von Eisen. Zum anderen wird das aufgenommene Eisen der Transfusionen durch Makrophagen, ebenfalls durch Hepcidin vermittelt, teilweise internalisiert (Ganz und Nemeth 2006). Ein EK wird demnach selbst beim gleichen Patienten während einer solchen Akuten-Phase-Reaktion zu einer geringeren Eisenbelastung der Leber führen als im „Normalzustand“. Im Rahmen dieser Regulation ist aktuell der Versuch Gegenstand der Forschung, mit Hepcidin-Agonisten eine Eisenüberladung zu therapieren (Casu et al. 2018). Perspektivisch könnte dieses Konzept bei guter Datenlage eine mögliche Alternative in der Prävention von transfusionsbedingten Spätfolgen sein (Nemeth 2009).

Weiterhin spielt der erhöhte Eisenbedarf durch Wachstumsprozesse bei Kindern und Jugendlichen eine Rolle. Um den erhöhten Bedarf zu decken kommt es zu einer verstärkten Mobilisation des Depoteisens (Kohgo et al. 2008). Dies trägt möglicherweise auch allmählich zur Reduktion des eingelagerten Eisens bei.

Ein interessanter Aspekt wäre noch die Beurteilung des Einflusses von bereits erfolgten Transfusionen vor der SZT auf die weitere Eisenaufnahme gewesen. Es könnte überprüft werden, ob die Eisenaufnahme in die Leber mit einer Sättigung der Depots zunehmend verringert wird. Ein solcher Effekt war in Verlaufsmessungen nach multiplen Transfusionen beobachtet worden (Kolnagou et al. 2009, Porter et al. 2015). Eine mögliche Ursache könnte die Regulation durch Erythroferron sein (Kautz et al. 2014). Dieses Protein inhibiert Hepcidin und wirkt damit positiv auf die Verfügbarkeit von Eisen im Körper. Ein hoher Spiegel von Erythroferron bedingt eine gesteigerte Eisenaufnahme und in der Folge eine höhere Belastung der Leber (Ganz et al. 2017). Bei Patienten mit Thalassämie ist im Verlauf mehrerer Transfusionen ein sinkender Erythroferron-Spiegel nachgewiesen worden, der für eine immer geringere zusätzliche Aufnahme nach Vorbelastung sprechen würde (Kautz et al. 2014). Der Großteil der im Verlauf untersuchten Patienten ( $N = 21 / 91 \%$  in dieser Gruppe) wurde bereits vor Transplantation transfundiert. Mit lediglich zwei Patienten in der Kontrollgruppe, die keine Transfusionen vor der SZT erhielten, waren keine statistisch validen Auswertungen möglich.

---

## 10.4 Konsequenzen einer Eisenüberladung (IO)

Die Transfusionen führten bei fast  $3/4$  der Patienten zu einer solch hohen Eisenbelastung (eLIC), dass siderotische Folgeschäden der Leber zu befürchten sind. Während bei einem erwachsenen Patienten von 70 kg Körpergewicht theoretisch mindestens 26 Transfusionen nötig wären, um die von *Angelucci et al.* beschriebene eLIC von  $7 \frac{\text{mg Fe}^{2+}}{\text{g}}$  zu erreichen (Angelucci et al. 2000), wären bei einem Kind von 30 kg Körpergewicht hingegen nur 11 Transfusionen nötig - eine Anzahl die regelmäßig bei den in dieser Arbeit untersuchten Patienten überschritten wurde.

Aktuell ist das routinemäßige Verabreichen von Chelatoren bei Kindern nach einer SZT nicht etabliert. Hinsichtlich der bekannten Langzeitfolgen der Eisenablagerungen ist eine individuelle Chelator-Therapie aber in Betracht zu ziehen. Bei der Festlegung eines möglichen Grenzwertes zur Therapieeinleitung muss das nicht unerhebliche Nebenwirkungsprofil der Chelatoren sowie die Belastung durch die langfristig nötige Verabreichung berücksichtigt werden. Eine Optimierung des Grenzwertes hinsichtlich der Sensitivität und der Spezifität ist für die Indikation der Therapie folglich sehr wichtig. Mangels Referenzen in dieser speziellen Fragestellung, wurde der etablierte Grenzwert einer Eisenüberladung von  $\text{SF} > 1000 \mu\text{g/l}$  bei Patienten mit einer Hereditärer Hämochromatose herangezogen (Knovich et al. 2009, Ong et al. 2016). In dieser Arbeit erwies sich diese höhere Grenze aufgrund der höheren Spezifität als vorteilhaft im Vergleich zu den niedrigen, altersabhängigen Normwerten. In Kapitel 10.1.2 der Diskussion wurde eine mögliche Grenze für die MR-Relaxometrie daraus abgeleitet.

Weiterführende Untersuchungen, die den Therapienutzen einer systematischen Chelattherapie bei transfusionspflichtigen Kindern untersuchen, sollten durchgeführt werden. Dabei sollte auch ein längerfristiger Vergleich mit einer Kontrollgruppe hinsichtlich möglicher Folgen der Eisenüberladung, aber auch Nebenwirkungen der Chelator-Therapie in der Entwicklungsphase (z.B. hinsichtlich Wachstumsstörungen), erfolgen. Ob sich die Hepcidin-Agonisten hierfür als Alternative etablieren, bleibt abzuwarten (Casu et al. 2018). Bis dahin sollte bei sehr häufig transfundierten Kindern und Jugendlichen nach einer SZT eine mögliche Chelator-Therapie individuell erwogen werden, da die z.T. sehr hohe Eisenbelastung längerfristig Komplikationen wahrscheinlich macht. Zur Überwachung dieser Patienten wäre es zumindest zu empfehlen, T2\*-Lebereisenmessungen in größeren Abständen (1-2 mal pro Jahr) durchzuführen.

## 10.5 Scherwellen-Elastografie

Die SWE spielt in der Diagnostik der Leberfibrose eine zunehmende Rolle. Verschiedene Ursachen einer Leberfibrose, u.a. auch die Eisenüberladung, wurden untersucht (Bruno et al. 2016, Sagir et al. 2015, Karlas et al. 2014, Mirault et al. 2008). Sie stellt ein Verfahren mit hoher Sensitivität hinsichtlich der Früherkennung einer Leberfibrose dar (Engelmann et al. 2012, Bruno et al. 2016). Dabei wurde meist der Übergang in eine

---

beginnende Fibrose<sup>3</sup> betrachtet. *Xiao et al.* konnten in einer Meta-Analyse an Patienten mit einer Non-alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) zeigen, dass die SWE im Vergleich zu anderen Sonografie-Verfahren (z.B. „*Fibroscan*“) bei frühen, als auch späten, Fibrosestadien eine mindestens vergleichbare Sensitivität und Spezifität besitzt. Nicht-invasiven Fibrose-Scores, wie dem „*APRI-Score*“, war sie überlegen. Die Korrelation der SWE mit dem Fibrorestadium ist auch für pädiatrische Patientengruppen belegt (*Garcovich et al. 2016, Trout et al. 2016*). Im Vergleich zur MR-Elastografie zeigte sich eine vergleichbare diagnostische Genauigkeit (*Xiao et al. 2017, Trout et al. 2016*).

Eine Unterstützung der SWE mit Serum Parametern zur Erhöhung der Aussagekraft war bei Kindern nach einer SZT bisher nicht beschrieben worden.

Die Zuordnung zu einer ursächlichen Eisenüberladung war mit den erhobenen Daten in dieser Studie nicht möglich. Eine direkte Korrelation der LIC mit der Lebersteifigkeit ist bei Patienten ohne fibrotische Veränderungen nicht beschrieben und auch in der vorliegenden Arbeit konnte keine signifikante Korrelation zwischen der MR-Relaxometrie und der SWE belegt werden. Die SWE ist somit kein geeignetes Instrument, um eine vermehrte Eisenbeladung der Leber direkt festzustellen und ihren Verlauf zu überwachen. Allerdings eignet sich die SWE gut, um eine Fibrose - möglicherweise bedingt durch eine erhöhte LIC und darauf folgender Reaktionen des Lebergewebes - frühzeitig zu detektieren.

Ein Screening auf fibrotische Veränderungen ist vielversprechend und sinnvoll. Für Kinder ist ein Grenzwert für eine beginnende Fibrose, entsprechend des Übergangs vom *METAVIR* F0 ins F1 Stadium, von 7,9 kPa beschrieben (*Franchi-Abella et al. 2016*). Auch in unserer Studie zeigten sich im Anschluss an die SZT Veränderungen der Steifigkeit der Leber, jedoch lagen die gemessenen Werte größtenteils unter dem Grenzwert für eine manifeste Fibrose. Dies könnte auch in der häufig kurzen Zeitspanne zwischen Beginn der Transfusionspflicht und den Verlaufsuntersuchungen per SWE begründet sein, sodass fibrotische Veränderungen noch nicht aufgetreten sind. Bei Erkrankungen mit kontinuierlich hohem Transfusionsbedarf oder einer abnormen Eiseneinlagerung, wie Thalassämien oder Hämochromatosen, sind derartige Veränderungen bereits im Kindesalter mit der SWE nachweisbar (*Hamidieh et al. 2014*). Nichtsdestotrotz ließen sich in dieser Arbeit bereits zu diesen früheren Zeitpunkten (partiell auch reversible) Veränderungen nachweisen, die noch keiner schweren Fibrose entsprachen.

Die SWE könnte somit als Surrogatmarker für beginnenden Leberumbau dienen und eine entsprechende, protektive Betreuung frühzeitig einleiten lassen. Eine potenzielle Regeneration des Lebergewebes bzw. eine Reduktion der hepatischen Eisenablagerungen erscheint hier noch möglich, wie es in den Verlaufsmessungen angedeutet wurde. Die späten Fibrosestadien werden als irreversibel angesehen (*Argyropoulou und Astrakas 2007, Kohgo et al. 2008*), sodass die frühzeitige Überwachung vorteilhaft erscheint.

---

<sup>3</sup>Entsprechend des Übergangs von *METAVIR* F0 zu F1 und damit gleichbedeutend mit einer portalen Fibrose (vgl. Tab. E.1 im Anhang S. XXX)

---

### 10.5.1 Kombination mit Serum-Parametern („HepScore“)

Es zeigte sich, dass die „HepScore“-Werte bei erhöhter SWE signifikant höher waren, als bei normwertiger Lebersteifigkeit. Das Leberparenchym wies im Mittel eine höhere Steifigkeit auf, wenn der „HepScore“ erhöht bzw. die Leberfunktion beeinträchtigt waren. Umbauprozesse des Parenchyms können die Ursache sein, die neben einer Versteifung des Lebergewebes zu dem Funktionsverlust mit erhöhtem „HepScore“ führten.

Diese Veränderungen waren im Verlauf teilweise wieder rückläufig. Die SZT oder assoziierte Prozesse scheinen demnach auch ohne das Auftreten manifester Komplikationen, wie der GvHD, die Leber zwischenzeitlich zu beeinträchtigen. Ob dies nun direkt der hohen Eisenaufnahme zuzuschreiben ist, oder ob andere Einflüsse (bspw. immunologische Effekte infolge der Transplantation) ursächlich waren, lässt sich daraus nicht ableiten.

Isoliert erhöhte „HepScore“-Werte sind ein unspezifischer Anhalt für Störungen des Leberstoffwechsels. Im „HepScore“ werden Parameter berücksichtigt, die vielfältigen Einflüssen bei der Stoffwechselregulation unterliegen. Einige Parameter, wie die Transaminasen, können bspw. bei Medikamenten mit hepatischer Elimination erhöht sein. Eine Leberenzym-Erhöhung ist zudem im Rahmen von Entzündungen durch den gesteigerten Leberstoffwechsel nicht untypisch (Wilhelm 2013): Der Patient aus der Verlaufsgrafik Abb. 8.3 hatte nach einer Kathetersepsis aufgrund der Akuten-Phase-Reaktion und einer Therapie mit potenziell lebertoxischen Medikamenten (wie Amphotericin B) zeitweilig erhöhte Parameter der Leberfunktion und damit einen deutlich erhöhten „HepScore“. Die SWE war hingegen unauffällig, was gegen einen Umbauprozess spricht. Ähnlich dazu ist während einer GvHD ein höherer Score durch eine verringerte Syntheseleistung der Leber und Erhöhung von Bilirubin sowie der Alkalischen Phosphatase (AP) zu erwarten (Speer et al. 2019). Die eigenständigen Aussagekraft des Scores wird dadurch zwar limitiert, jedoch ist die ursprünglich angestrebte Anwendung nicht beeinträchtigt:

Der Score soll und kann keine eigenständige Diagnose ermöglichen, sondern dient vielmehr der Unterstützung bzw. der Steigerung der Spezifität von Untersuchungen mittels SWE. Fällt ein erhöhter SWE-Wert bei Patienten nach wiederholten Transfusionen auf, sollte der „HepScore“ berechnet werden: Ist dieser größer als 5 Punkte, so ist eine weiterführende Diagnostik zum Ausschluss von Umbauprozessen empfehlenswert. Im Umkehrschluss kann eine unauffällige SWE in Kombination mit einem unauffälligen „HepScore“ zum Ausschluss dieser Transfusionsschäden genutzt werden (Steigerung des *negativen prädiktiven Wertes* der SWE).

### 10.5.2 Beeinflussung der SWE durch Komplikationen

Die GvHD führte in 66 % der Fälle zu erhöhten SWE-Ergebnissen, während bei Patienten mit VOD keine Assoziation nachgewiesen werden konnte. Allerdings ist die Aussagekraft der Beobachtung bei den kleinen Stichproben kritisch zu bewerten. Die GvHD und die VOD stellen Komplikationen dar, die die Steifigkeit des Leberparenchyms beeinflussen

---

können und eine Assoziation mit einer auffälligen SWE ist beschrieben (Karlas et al. 2014, Colecchia et al. 2016, Reddivalla et al. 2018, Zhang et al. 2019). Die erhöhte Steifigkeit des Lebergewebes bei den Patienten mit GvHD könnte entsprechend davon mitbedingt sein. *Zhang et al.* vermuteten die Ursache davon in Effekten der Cholestase und daraus folgenden Umbauprozessen mit Schädigung der kleinen Gallengänge, einer portalen Fibrose bis hin zur Nekrose (Zhang et al. 2019). Bei der VOD wird eine Engstellung der hepatischen Sinusoide beobachtet, die daraufhin durch Gerinnungsprozesse verlegt werden können. Ein post-sinusoidaler, portaler Hochdruck sowie eine porto-zentrale Fibrose können folgen, die sich in einer auffälligen SWE zeigen können (Colecchia et al. 2016).

Erste Publikationen liefern Hinweise, dass die SWE dadurch bei der frühen Detektion dieser relevanten Komplikationen nach einer SZT hilfreich sein kann (Colecchia et al. 2016, Reddivalla et al. 2018, Zhang et al. 2019). Allerdings ist die Datenlage in dieser speziellen Fragestellung bisher nicht sehr umfangreich.

Bei einer weiteren Patientin war bereits vor der Transplantation eine infektiöse Hepatitis behandelt worden. Sie war zum Zeitpunkt der Aufnahmen deutlich jünger als die typische Latenzzeit einer Fibrose nach Hepatitis von über 20 Jahren (Sarrazin et al. 2010). Da auch die SWE unauffällig war, ist eine Fibrose aufgrund der Hepatitis zum Messzeitpunkt insgesamt unwahrscheinlich.

### 10.5.3 Weitere Einflussfaktoren

Die Reliabilität der Messungen ist vor allem auch von der Compliance der Patienten abhängig. Das sichere Einhalten der Atemmittellage mit kurzem Atemstillstand ist für Kinder in der untersuchten Altersgruppe meist erst ab einem Alter von ca. 3 - 4 Jahren möglich, sodass Messwerte für jüngere Patienten meist eine große Streubreite aufwiesen und nur unter Vorbehalt zu verwerten sind. Bei sehr ruhigen Kleinkindern konnten die Messungen auch ohne Luftanhalten häufig erfolgreich durchgeführt werden. Der Einfluss der Atemlage auf das Messergebnis wird kontrovers diskutiert (Kempe et al. 2014, Franchi-Abella et al. 2016).

Einflüsse durch eine variierende Platzierung der ROI oder den Füllungsstatus der Gallenwege sind beschrieben (Mueller-Abt et al. 2008, Sarvazyan et al. 2011, Mansoor et al. 2015, Perazzo et al. 2015, Bruno et al. 2016, Trout et al. 2016). Gerade bei Kindern sind bestimmte Faktoren nur bedingt auszuschließen bzw. einheitliche Untersuchungsbedingungen schwerer sicherzustellen: Die Füllung der Gallenblase bzw. der intra-hepatischen Gallenwege sind nicht bei jedem Kind gleich. Es zeigten sich bei der wiederholten Messung des selben Patienten teilweise sehr unterschiedliche Untersuchungsbedingungen, da eine häufigere Nahrungsaufnahmen nötig und Nüchternheit / Nahrungskarenz zur Untersuchung schlechter realisierbar waren, als bei Erwachsenen. Es wurde versucht, diese Einflüsse durch Messungen am Vormittag zu minimieren.

Die Ergebnisse der SWE sind zudem abhängig vom gewählten Schallkopf bzw. Ultraschallgerät (Franchi-Abella et al. 2016). Eine frühere Arbeit unserer Klinik zeigte verschiedene



---

Einflüsse, wie z.B. der Atemlage oder des Verkipfungswinkels des Schallkopfes (Kempe et al. 2014). Einheitliche Grenzwerte sind folglich schwierig festzusetzen und standardisierte Untersuchungsprotokolle wären hilfreich. Wir bezogen uns bei dem für diese Arbeit gewählten Grenzwert der SWE ( $> 5,5$  kPa) auf eine frühere Studie bei CF-Patienten (Fiege et al. 2015) am gleichen verwendeten Ultraschallgerät (*iU22*, Philipps Healthcare, Einthoven / Niederlande). Dieser entspricht der Größenordnung weiterer Arbeiten in der Literatur (Engelmann et al. 2012, Hanquinet et al. 2013, Sagir et al. 2015).

Aufgrund dieser Vielzahl an weiteren Einflussfaktoren, ist eine auffällige SWE zunächst kein sehr spezifisches Ergebnis, sondern prinzipiell nur ein Hinweis auf eine erhöhte Steifigkeit. Die Ergebnisse sollten daher im Zusammenhang mit der Klinik des Patienten sowie weiteren Untersuchungen eingeordnet werden. Bei der Darstellung fibrotischer Veränderungen sind sehr gute Ergebnisse beschrieben, sodass die SWE hierfür an Bedeutung gewinnt (Barr et al. 2015, Franchi-Abella et al. 2016, Xiao et al. 2017).

## 10.6 Limitationen dieser Arbeit

### 10.6.1 Allgemeine Limitationen

In diese Arbeit wurden insgesamt 58 Patienten eingeschlossen und zu verschiedenen Zeitpunkten untersucht (insgesamt 226 erhobene Messwertpaare), davon 45 Patienten im TEIL I zur SWE sowie überschneidend 23 Patienten in den Verlaufsmessungen für SF und T2\* des Teil II. Für die Analysen limitierend war insbesondere die wiederholte Messung der einzelnen Patienten im Verlauf, die eine Einbeziehung sämtlicher Messwerte des selben Patienten - je nach verwendetem Testverfahren - nicht immer möglich machte. Die individuellen Verlaufsbeobachtungen beinhalteten unterschiedlich viele Messpunkte neben den prospektiv festgesetzten Screening-Terminen vor der Transplantation sowie an Tag 100 und Tag 365 danach. Diese ließen sich jedoch in Folge der zeitlichen Differenz nicht einfach untereinander vergleichen. Aufgrund der Stichprobengröße und diesen individuell verschiedenen Verläufen, ließen sich die Daten der Patienten nur bedingt statistisch zusammengefasst auswerten. Es wurde vor allem auf deskriptive Statistiken zurückgegriffen oder die individuellen Verlaufsgrafiken zusammenfassend ausgewertet. Im zuerst bei *Pediatric Radiology*, Springer Medicine, publizierten Artikel<sup>4</sup> wurden die Korrelationen zwischen den einzelnen Messmethoden zur Übersicht zunächst für sämtliche erhobene Parameter ohne Berücksichtigung der Zeitpunkte berechnet. Diese Herangehensweise ermöglichte zwar die Anwendung aussagekräftigerer Teststatistiken, da sich bspw. eine dafür nötige Normalverteilung der Messwerte in den ansonsten zu kleinen Stichproben nicht sicher prüfen lässt. Allerdings wird aufgrund der fehlenden Berücksichtigung von patientenbedingten Einflüssen bei mehrfacher Messung eines Probanden eine Überschätzung des Signifikanzniveaus in Kauf genommen (Annahme eines möglicherweise zu kleinen  $p$ -Wertes). Daher wurde in der Auswertung der Promotionsarbeit von vornherein auf die

---

<sup>4</sup>siehe auch Kapitel 9.1.

---

komplexeren Generalized Estimating Equations (GEE) oder die isolierte Betrachtung eines bestimmten Zeitpunktes pro Patienten zurückgegriffen. Im Vergleich hatten sich bei beiden statistischen Auswertungen allerdings keine unterschiedlichen Rückschlüsse auf die Beziehung zwischen den einzelnen Parametern ergeben.

Zur konkreten Bestimmung der LIC sowie zur histologischen Sicherung einer möglichen Fibrose sind Biopsien der Leber unumgänglich. Diese konnten jedoch aufgrund des invasiven Eingriffs sowie der daraus folgenden hohen Belastung der untersuchten Patientengruppe bei mehrfacher Messung aus ethischen Gründen und des erhöhten Komplikationsrisikos, v.a. in Zeiten reduzierter Knochenmarksfunktion, nicht realisiert werden. Eine histologische Sicherung vor der SZT und im Verlauf vorzunehmen, wäre von großem Vorteil zur Bestätigung der Vermutung, dass eine Regeneration von Leberparenchym nach Eisenüberladung möglich ist.

Weiterhin unberücksichtigt blieb der Eisenverlust von weiblichen Patienten im Rahmen ihrer Menstruationsblutungen. Die regelmäßigen Blutungen können möglicherweise einen geringeren Eisenspiegel des Körpers und damit auch eine niedrigere LIC bewirken. Der Menarche-Status der Patientinnen wurde jedoch nicht erhoben. Derartige Vergleiche wären in den Verlaufsmessungen sinnvoll, allerdings war die Stichprobengröße im passenden Alter (ab ca. 12 Jahren) mit 4 weiblichen Patienten und 5 gleichaltrigen, männlichen Patienten in der Kontrollgruppe auch zu klein für signifikante Aussagen in den üblichen statistischen Testverfahren.

### 10.6.2 Grenzen der MR-Relaxometrie

Untersuchungen zur Eignung der MR-Relaxometrie für die Eisenbestimmung während Entzündungen sind so bisher noch nicht beschrieben worden. Der weiterhin ermittelte Schwellenwert für  $T2^*$  in der Diagnostik einer relevanten Eisenüberladung ist ebenfalls neu und bedarf zusätzlicher Untersuchungen zur Bestätigung vor einer allgemeingültigen Verwendung.

Eine Beurteilung der LIC mittels MRT wäre im unmittelbaren Zeitraum nach der Transplantation hinsichtlich möglicher Entzündungsprozesse sehr interessant gewesen. Allerdings ist dort kein anderes Ergebnis zu erwarten, da sich bereits zu den anderen Zeitpunkten, also auch während späterer entzündlicher Komplikationen, kein signifikanter Einfluss des CrP-Levels zeigte. Aus den oben beschriebenen Gründen (insbesondere der Isolierung zur Infektionsprophylaxe) wurden keine MR-Messungen zwischen diesen Zeitpunkten realisiert.

Perspektivisch ist eine vergleichende Messung an MR-Tomographen mit einer Feldstärke  $B_0$  von 3 T interessant, da diese im klinischen Setting immer häufiger anzutreffen sind. Eine höhere Feldstärke  $B_0$  bedingt einen größeren Feldgradienten  $\Delta B$  und damit eine stärkere Dephasierung bei gleicher Voxelgröße. Dadurch würde eine höhere Sensitivität von  $T2^*$  für kleinere Suszeptibilitätssprünge bei geringfügigen Änderungen der LIC ermöglicht

---

werden (Chavhan et al. 2009). Inhomogenitäten des Magnetfeldes bewirken jedoch selbst Feldgradienten, die aufgrund des stärkeren Magnetfeldes  $B_0$  deutlicher ins Gewicht fallen würden. Eine Anpassung der Sequenzparameter, insbesondere der Schichtdicke, kann derartige Effekte möglicherweise reduzieren. Die grundlegende Assoziation von LIC und T2\*-Zeiten wird von der höheren Feldstärke  $B_0$  nicht beeinflusst werden (Yablonskiy und Haacke 1994), allerdings würde eine Anpassung der konkreten Umrechnung von T2\* in das resultierende MR-Fe nötig sein.

### 10.6.3 Stellenwert von Serum Ferritin und MR-Relaxometrie im klinischen Alltag

Unsere Ergebnisse unterstreichen, dass SF als Surrogatmarker für den Eisenstatus im klinischen Alltag bei Patienten ohne entzündliche Pathologien durchaus seine Berechtigung hat. Bei routinemäßigen Bestimmungen wird es daher sicherlich nicht generell von der wesentlich teureren und aufwändigeren MRT abgelöst. Jedoch ist bei immunologischen / hämatologischen Krankheitsbildern bzw. bei schwer kranken oder transplantierten Patienten eine Überlagerung im Rahmen von Entzündungsprozessen zu erwarten, wie sie sich in den Verlaufsuntersuchungen bei dieser Arbeit zeigten. Die SF-Bestimmung ist in diesem Kontext zur Diagnose eines Eisenmangels oder einer Eisenüberladung nicht uneingeschränkt zu empfehlen. Die MR-Relaxometrie zeigte hingegen keine Abhängigkeit von Entzündungsprozessen, was eine verlässliche Bestimmung des Eisens ermöglicht.

### 10.6.4 Einschränkungen in der Scherwellen-Elastografie

Die Anwendung des Grenzwertes für die SWE ( $> 5,5$  kPa) ist zunächst auf das verwendete Ultraschallgerät limitiert, da unterschiedliche SWE-Messwerte bei verschiedenen handelsüblichen Geräten beschrieben sind (Franchi-Abella et al. 2016). Es gibt zudem verschiedene Elastografie-Methoden, deren Ergebnisse untereinander nicht einfach übertragbar sind (Stenzel und Mentzel 2014). Nicht jedes Gerät bietet dabei die von Philipps verwendete ROI-gestützte Elastografie mittels ARFI-Imaging an.

Die Leber ist ein zentrales Organ in der Regulation des Stoffwechsels sowie der Entgiftung des Körpers und dabei vielfältigen Einwirkungen ausgesetzt. Der Eisenhaushalt stellt nur einen der zahlreichen Effektoren dar. Sowohl die SWE, als auch der „HepScore“, unterliegen multifaktoriellen Einflüssen. Auffällige Werte sind folglich per se unspezifisch und müssen immer mit einer entsprechenden Anamnese (bspw. einer bekannten hohen Eisenaufnahme) kombiniert werden. Ähnlich ist auch das SF immer im Zusammenhang mit dem klinischen Zustand des Patienten im Hinblick auf mögliche Immunreaktionen zu sehen.

---

## 10.7 Bewertung der Hypothesen

Die definierten Hypothesen 1 bis 3 können mit den Ergebnissen dieser Arbeit belegt werden.

Bei Hypothese 2 muss angemerkt werden, dass diese entzündlichen Einflüsse regelhaft nur innerhalb der ersten 100 Tage nach Transplantation auftraten. Spätere Komplikationen (wie GvHD, VOD oder Infektionen) bedingten individuell auch zu diesen Zeitpunkten einen SF-Anstieg. Abseits davon zeigte sich eine sehr gute Übereinstimmung von SF und MR-Fe hinsichtlich der diagnostischen Aussagekraft bei der Bestimmung einer relevanten Eisenüberladung (IO).

Die Hypothese 4 ließ sich nicht vollends bestätigen. Ein direkter Zusammenhang der Eisenkonzentration und der Steifigkeit des Leberparenchyms war nicht nachzuweisen. Allerdings lassen sich Folgeschäden sekundär durch Umbauprozesse des Parenchyms bei einer Eisenüberladung darstellen.

# 11 Schlussfolgerungen

1. Kinder und Jugendliche mit hämatologisch-onkologischen Erkrankungen weisen nach wiederholten Transfusionen sehr häufig eine Eisenakkumulation auf, die im longitudinalen Verlauf mit Hilfe der MR-Relaxometrie oder Serum Ferritin (SF) beurteilt werden kann.
2. Die untersuchten Patienten erhielten innerhalb des ersten Jahres eine solch große Menge an Transfusionen<sup>1</sup>, dass siderotische Langzeitfolgen zu befürchten sind.
3. SF kann unabhängig von der Eisenbeladung in Folge von Entzündungsreaktionen nach einer Stammzelltransplantation erhöht sein. Rückschlüsse auf den Eisenhaushalt sind in dieser Phase daher fehlerbehaftet. Es empfiehlt sich eine spätere Bestimmung unter Kontrolle des CrPs oder das Ausweichen auf ein alternatives Verfahren.
4. Die MR-Relaxometrie ist eine geeignete nicht-invasive Alternative zu SF bei der Quantifizierung des Eisengehaltes der Leber im Kindes- und Jugendalter, die durch Immunreaktionen nicht beeinflusst wird.
5. Beide Verfahren zeigen abseits der Entzündungen eine sehr gute Übereinstimmung bei der Diagnose einer vermehrten Eisenbeladung, sofern für SF eine passende Grenze (bspw.  $SF > 1000 \mu\text{g/l}$ ) gewählt wird. Eine vergleichbare Schwelle für die MR-Relaxometrie liegt bei  $T2^* < 5,59 \text{ ms}$ .
6. Bei Kontrolluntersuchungen nach einer Stammzelltransplantation mittels MRT des Abdomens ist es empfehlenswert, zusätzlich eine MR-Relaxometrie der Leber durchzuführen.
7. Die Ultraschallelastografie wird von der Eisenbeladung der Leber nicht direkt beeinflusst und korreliert nicht mit der MR-Relaxometrie. Folgeschäden, wie eine Fibrosierung, lassen sich mit ihr jedoch beurteilen.
8. Die Spezifität der Ultraschallelastografie für Leberparenchymschäden lässt sich erhöhen, indem diese im Zusammenhang mit Serumparametern (wie mittels des „HepScores“) betrachtet wird. Eine unauffällige Scherwellen-Elastografie ( $\leq 5,5 \text{ kPa}$ ) kann in Verbindung mit einem „HepScore“  $\leq 5$  Punkten zum Ausschluss pathologischer Umbauprozesse dienen.

---

<sup>1</sup>vgl.  $eLIC > 7 \frac{\text{mg Fe}^{2+}}{\text{g}}$  (Angelucci et al. 2000)

---

## Einordnung der Ergebnisse

Mit der vorliegenden Arbeit ließ sich nicht nur die MR-Relaxometrie als Methode zur Bestimmung der LIC bestätigen, sondern es ließen sich auch neue Erkenntnisse zur Eignung der MR-Relaxometrie nach einer SZT im Kontext von Akute-Phase-Reaktionen gewinnen. Neu beschrieben ist der zugehörige T2\*-Grenzwert in der Diagnose einer relevanten Eisenüberladung.

Serum Ferritin (SF) wird in der routinemäßigen Verlaufskontrolle der Eisenbeladung weiterhin seinen Stellenwert behalten. Die weitläufig bekannten Einflüsse von Akute-Phase-Reaktionen auf SF zeigten sich auch in unserer Arbeit deutlich. Erhöhte SF-Spiegel, insbesondere im Zusammenhang mit starken Immunreaktionen (wie nach SZT), müssen kritischer betrachtet werden. Die MR-Relaxometrie sollte in diesen Fällen in Zukunft stärkere Beachtung erfahren.

Der „HepScore“ stellt eine Möglichkeit zur Unterstützung der SWE in der Früherkennung von Transfusionsfolgeschäden dar. Die Eisenbelastung der untersuchten Patienten war z.T. enorm. Hier sind weitere Studien zur Beurteilung einer notwendigen Intervention wünschenswert.

Es ist denkbar, dass die SWE dadurch in Verlaufsuntersuchungen bereits in früheren Stadien, als der manifesten Fibrose, Umbauprozesse anzeigen könnte. Weiterführende Untersuchungen, evtl. sogar mit Unterstützung von Leberbiopsien, wären zur Abklärung nötig und anzustreben.

# Literaturverzeichnis

- Alexopoulou E, Stripeli F, Baras P, Seimenis I, Kattamis A, Ladis V, Efstathopoulos E, Brountzos E, Kelekis A, Kelekis N. 2006. R2 relaxometry with MRI for the quantification of tissue iron overload in beta-thalassemic patients. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 23(2):163–170.
- Alústiza JM, Castiella A, Juan MDD, Emparanza JI, Artetxe J, Uranga M. 2007. Iron overload in the liver diagnostic and quantification. *European Journal of Radiology*, 61(3):499–506.
- Anderson L, Holden S, Davis B, Prescott E, Charrier CC, Bunce N, Firmin DN, Wonke B, Porter J, Walker JM, Pennell DJ. 2001. Cardiovascular T2-star (T2\*) magnetic resonance for the early diagnosis of myocardial iron overload. *European Heart Journal*, 22(23):2171–9.
- Angelucci E, Brittenham GM, McLaren CE, Ripalti M, Baronciani D, Giardini C, Galimberti M, Polchi P, Lucarelli G. 2000. Hepatic Iron Concentration and Total Body Iron Stores in Thalassemia Major. *New England Journal of Medicine*, 343(5):327–331.
- Argyropoulou MI, Astrakas L. 2007. MRI evaluation of tissue iron burden in patients with  $\beta$ -thalassaemia major. *Pediatric Radiology*, 12(37):1191–1200.
- Argyropoulou MI, Kiortsis DN, Astrakas L, Metafratzi Z, Chalissos N, Efremidis SC. 2007. Liver, bone marrow, pancreas and pituitary gland iron overload in young and adult thalassemic patients: a T2 relaxometry study. *European Radiology*, 17(12):3025–3030.
- Barr RG, Ferraioli G, Palmeri ML, Goodman ZD, Garcia-Tsao G, Rubin J, Garra B, Myers RP, Wilson SR, Rubens D, Levine D. 2015. Elastography Assessment of Liver Fibrosis: Society of Radiologists in Ultrasound Consensus Conference Statement. *Radiology*, 276(3):845–861.
- Bedossa P, Poynard T. 1996. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. *Hepatology*, 24(2):289–293.
- Bruno C, Minniti S, Bucci A, Mucelli RP. 2016. ARFI: from basic principles to clinical applications in diffuse chronic disease - a review. *Insights Imaging*, 7(5):735–746.

- 
- Casu C, Nemeth E, Rivella S. 2018. Hepcidin agonists as therapeutic tools. *Blood*, 131(16):1790–1794.
- Chavhan GB, Babyn PS, Thomas B, Shroff MM, Haacke EM. 2009. Principles, techniques, and applications of T2\*-based MR imaging and its special applications. *Radiographics*, 29(5):1433–1449.
- Chuansumrit A, Laothamathat J, Sirachainan N, Sungkarat W, Wongwerawattanakoon P, Kumkrua P. 2016. Correlation between liver iron concentration determined by magnetic resonance imaging and serum ferritin in adolescents with thalassaemia disease. *Paediatrics and International Child Health*, 36(3):203–208.
- Coates TD, Wood JC. 2017. How we manage iron overload in sickle cell patients. *British Journal of Haematology*, 177(5):703–716.
- Colecchia A, Marasco G, Ravaioli F, Kleinschmidt K, Masetti R, Prete A, Pession A, Festi D. 2016. Usefulness of liver stiffness measurement in predicting hepatic veno-occlusive disease development in patients who undergo HSCT. *Bone Marrow Transplantation*, 52:494–497.
- Creutzig U, Lernbecher T. 2016. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften. S1 Leitlinie: Akute lymphoblastische Leukämie - ALL im Kindesalter. AWMF Register 025 - 014. [https://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/025-014l\\_S1\\_Akute\\_lymphoblastische\\_Leukaemie\\_ALL\\_2016-04.pdf](https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/025-014l_S1_Akute_lymphoblastische_Leukaemie_ALL_2016-04.pdf), aufgerufen: 2019-03-31.
- Döring M, Cabanillas Stanchi KM, Feucht J, Queudeville M, Teltschik HM, Lang P, Feuchtinger T, Handgretinger R, Müller I. 2016. Ferritin as an early marker of graft rejection after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in pediatric patients. *Annals of Hematology*, 95(2):311–323.
- Engelmann G, Gebhardt C, Wenning D, Wühl E, Hoffmann GF, Selmi B, Grulich-Henn J, Schenk JP, Teufel U. 2012. Feasibility study and control values of transient elastography in healthy children. *European Journal of Pediatrics*, 171(2):353–360.
- Fagioli F, Quarello P, Zecca M, Lanino E, Rognoni C, Balduzzi A, Messina C, Favre C, Foà R, Ripaldi M, Rutella S, Basso G, Prete A, Locatelli F. 2013. Hematopoietic stem cell transplantation for children with high-risk acute lymphoblastic leukemia in first complete remission: a report from the AIEOP registry. *Haematologica*, 98(8):1273–1281.
- Fiege J, Mainz J, Renz D, Mentzel H. 2015. Wertigkeit des Acoustic Radiation Force Impulse Imaging (ARFI) zur Beurteilung der Leberbeteiligung bei Patienten mit Cystischer Fibrose. In: 96. Deutscher Röntgenkongress, Hamburg, (RöFo 2015). 1.



- 
- Franchi-Abella S, Corno L, Gonzales E, Antoni G, Fabre M, Ducot B, Pariente D, Genisson JL, Tanter M, Corréas JM. 2016. Feasibility and Diagnostic Accuracy of Supersonic Shear-Wave Elastography for the Assessment of Liver Stiffness and Liver Fibrosis in Children: A Pilot Study of 96 Patients. *Radiology*, 278(2):554–562.
- Friedrich–Rust M, Ong M, Martens S, Sarrazin C, Bojunga J, Zeuzem S, Herrmann E. 2008. Performance of Transient Elastography for the Staging of Liver Fibrosis: A Meta-Analysis. *Gastroenterology*, 134(4):960–974.e8.
- Gandon Y, Olivie D, Guyader D, Aubé C, Oberti F, Sebille V, Deugnier Y. 2004. Non-invasive assessment of hepatic iron stores by MRI. *The Lancet*, 363(9406):357–362.
- Ganz T, Jung G, Naeim A, Ginzburg Y, Pakbaz Z, Walter PB, Kautz L, Nemeth E. 2017. Immunoassay for human serum erythroferrone. *Blood*, 130(10):1243–1246.
- Ganz T, Nemeth E. 2006. Iron imports. IV. Hepcidin and regulation of body iron metabolism. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 290(2):G199–G203.
- Garbowski MW, Carpenter JP, Smith G, Roughton M, Alam MH, He T, Pennell DJ, Porter JB. 2014. Biopsy-based calibration of T2\* magnetic resonance for estimation of liver iron concentration and comparison with R2 Ferriscan. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance*, 16(1):40.
- Garcovich M, Veraldi S, Stasio ED, Zocco MA, Monti L, Tomà P, Pompili M, Gasbarrini A, Nobili V. 2016. Liver Stiffness in Pediatric Patients with Fatty Liver Disease: Diagnostic Accuracy and Reproducibility of Shear-Wave Elastography. *Radiology*, 283(3):820–827.
- Glucksberg H, Storb R, Fefer A, Buckner CD, Neiman PE, Clift RA, Lerner KG, Thomas ED. 1974. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation*, 18(4):295–304.
- Hamidieh AA, Shazad B, Ostovaneh MR, Behfar M, Tayebi S, Malekzadeh R, Ghamvazadeh A, Poustchi H. 2014. Noninvasive Measurement of Liver Fibrosis Using Transient Elastography in Pediatric Patients with Major Thalassemia Who Are Candidates for Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 20(12):1912–1917.
- Hanquinet S, Courvoisier D, Kanavaki A, Dhouib A, Anooshiravani M. 2013. Acoustic radiation force impulse imaging - normal values of liver stiffness in healthy children. *Pediatric Radiology*, 43(5):539–544.
- Henninger B, Kremser C, Rauch S, Eder R, Zoller H, Finkenstedt A, Michaely HJ, Schocke M. 2012. Evaluation of MR imaging with T1 and T2\* mapping for the determination of hepatic iron overload. *European Radiology*, 22(11):2478–2486.

- 
- Hernando D, Vigen KK, Shimakawa A, Reeder SB. 2012. R mapping in the presence of macroscopic B0 field variations. *Magnetic Resonance in Medicine*, 68(3):830–840.
- Herold G, Hrsg. 2012. *Innere Medizin. Eine vorlesungsorientierte Darstellung*. Köln: Eigenverlag. ISBN 978-3-9814660-1-0.
- Hunger SP, Lu X, Devidas M, Camitta BM, Gaynon PS, Winick NJ, Reaman GH, Carroll WL. 2012. Improved Survival for Children and Adolescents With Acute Lymphoblastic Leukemia Between 1990 and 2005: A Report From the Children’s Oncology Group. *Journal of Clinical Oncology*, 30(14):1663–1669.
- Imbach P, Kühne T, Arceci RJ, Hrsg. 2014. *Kompodium Kinderonkologie*. Dritte Aufl. Berlin / Heidelberg: Springer. ISBN 978-3-662-43484-0.
- Jacobi N, Herich L. 2016. Measurement of liver iron concentration by superconducting quantum interference device biomagnetic liver susceptometry validates serum ferritin as prognostic parameter for allogeneic stem cell transplantation. *European Journal of Haematology*, 97(4):336–341.
- Jung YK, Yim HJ. 2017. Reversal of liver cirrhosis: current evidence and expectations. *The Korean Journal of Internal Medicine*, 32(2):213–228.
- Kahl-Scholz M, Vockelmann C, Hrsg. 2017. *Basiswissen Radiologie*. Berlin / Heidelberg: Springer Verlag. ISBN 978-3-662-54277-4.
- Karlas T, Weber J, Nehring C, Kronenberger R, Tenckhoff H, Mössner J, Niederwieser D, Tröltzsch M, Lange T, Keim V. 2014. Value of liver elastography and abdominal ultrasound for detection of complications of allogeneic hemopoietic SCT. *Bone Marrow Transplantation*, 49:806–811.
- Kautz L, Jung G, Valore EV, Rivella S, Nemeth E, Ganz T. 2014. Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism. *Nature Genetics*, 46(7):678–684.
- Kempe H, Günther J, Stenzel M, Mentzel HJ. 2014. Einflussparameter auf die Scherwellenelastografie der Leber. *Ultraschall in Med*, 35(1.1).
- Knovich MA, Storey JA, Coffman LG, Torti SV, Torti FM. 2009. Ferritin for the clinician. *Blood Reviews*, 23(3):95–104.
- Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T, Torimoto Y, Kato J. 2008. Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *Internal Journal of Hematology*, 88(1):7–15.
- Kolnagou A, Yazman D, Economides C, Eracleous E, Kontoghiorghe GJ. 2009. Uses and Limitations of Serum Ferritin, Magnetic Resonance Imaging T2 and T2\* in the Diagnosis of Iron Overload and in the Ferritokinetics of Normalization of the Iron Stores in Thalassemia Using the International Committee on Chelation Deferiprone/Deferoxamine Combination Protocol. *Hemoglobin*, 33(5):312–322.

- 
- Kornreich L, Horev G, Yaniv I, Stein J, Grunebaum M, Zaizov R. 1997. Iron overload following bone marrow transplantation in children: MR findings. *Pediatric Radiology*, 27(11):869–872.
- Leitch HA, Vickars LM. 2009. Supportive care and chelation therapy in MDS: are we saving lives or just lowering iron? *American Society of Hematology*:664–672.
- Lörke J, Erhardt A, Vogt C, Häussinger D. 2007. Nicht invasive Diagnostik der Leberzirrhose. *Deutsches Ärzteblatt*, 24:A1752–A1757.
- Mansoor S, Collyer E, Alkhouri N. 2015. A Comprehensive Review of Noninvasive Liver Fibrosis Tests in Pediatric Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Current Gastroenterology Reports*, 17(6):23.
- Matzner Y, Konijn AM, Hershko C. 1980. Serum ferritin in hematologic malignancies. *Am J Hematol*, 9(1):13–22.
- Merli P, Algeri M, Del Bufalo F, Locatelli F. 2019. Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *Current Hematologic Malignancy Reports*, 14(94).
- Milic S, Mikolasevic I, Orlic L, Devcic E, Starcevic-Cizmarevic N, Stimac D, Kapovic M, Ristic S. 2016. The Role of Iron and Iron Overload in Chronic Liver Disease. *Medical Science Monitor*, 22:2144–2151.
- Mirault T, Lucidarme D, Turlin B, Vandevenne P, Gosset P, Ernst O, Rose C. 2008. Non-invasive assessment of liver fibrosis by transient elastography in post transfusional iron overload. *European Journal of Haematology*, 80(4):337–340.
- Mueller-Abt PR, Frawley KJ, Greer RM, Lewindon PJ. 2008. Comparison of ultrasound and biopsy findings in children with cystic fibrosis related liver disease. *Journal of Cystic Fibrosis*, 7(3):215–221.
- Nemeth E. 2009. Development of Hepcidin Agonists and Antagonists. *Blood*, 114(22):SCI–27.
- Nemeth E, Valore EV, Territo M, Schiller G, Lichtenstein A, Ganz T. 2003. Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood*, 101(7):2461–2463.
- Nielsen P, Kordes U, Fischer R, Engelhardt R, Janka GE. 2002. SQUID-Biosuszeptometrie bei Eisenüberladungskrankheiten in der Hämatologie. *Klinische Padiatrie*, 214(04):218–222.
- Ong S, Nicoll AJ, Delatycki MB. 2016. How should hyperferritinaemia be investigated and managed? *European Journal of Internal Medicine*, 33:21–27.

- 
- Or R, Matzner Y, Konijn A. 1987. Serum ferritin in patients undergoing bone marrow transplantation. *Cancer*, 60:1127–31.
- Otrock ZK, Daver N, Kantarjian HM, Eby CS. 2017. Diagnostic Challenges of Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*, 17:105–110.
- Paisant A, d'Assignies G, Bannier E, Bardou-Jacquet E, Gandon Y. 2017. MRI for the measurement of liver iron content, and for the diagnosis and follow-up of iron overload disorders. *Presse Medicale*, 46(12):e279–e287.
- Perazzo H, Veloso VG, Grinsztejn B, Hyde C, Castro R. 2015. Factors That Could Impact on Liver Fibrosis Staging by Transient Elastography. *International Journal of Hepatology*, 2015. Article ID 624596 [ePub].
- Porter JB, Witte Td, Cappellini MD, Gattermann N. 2015. New insights into transfusion-related iron toxicity: Implications for the oncologist. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 99:261–271.
- Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, Klingemann HG, Beatty P, Hows J, Thomas ED. 1995. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplantation*, 15:825–828.
- Quinn CT, St Pierre TG. 2016. MRI Measurements of Iron Load in Transfusion-Dependent Patients: Implementation, Challenges, and Pitfalls. *Pediatric Blood & Cancer*, 63(5):773–780.
- Reddivalla N, Robinson AL, Reid KJ, Radhi MA, Dalal J, Opfer EK, Chan SS. 2018. Using liver elastography to diagnose sinusoidal obstruction syndrome in pediatric patients undergoing hematopoietic stem cell transplant. *Bone Marrow Transplantation*. [ePub].
- Reichenbach JR, Venkatesan R, Yablonskiy DA, Thompson MR, Lai S, Haacke EM. 1997. Theory and application of static field inhomogeneity effects in gradient-echo imaging. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 7(2):266–279.
- Rose C, Vandevenne P, Bourgeois E, Cambier N, Ernst O. 2006. Liver iron content assessment by routine and simple magnetic resonance imaging procedure in highly transfused patients. *European Journal of Haematology*, 77(2):145–149.
- Rote Liste®. 2017. Arzneimittelinformationen für Deutschland. Frankfurt / Main: Rote Liste Service GmbH, Bundesverband der Pharmazeutischen Industrie e.V. & Verband Forschender Arzneimittelhersteller e.V. ISBN 978-3-946057-10-9.
- Runge JH, Akkerman EM, Troelstra MA, Nederveen AJ, Beuers U, Stoker J. 2016. Comparison of clinical MRI liver iron content measurements using signal intensity ratios, R(2) and R(2)\*. *Abdominal Radiology*, 41(11):2123–2131.

- 
- Ruscitti P, Cipriani P, Di Benedetto P, Liakouli V, Berardicurti O, Carubbi F, Ciccia F, Guggino G, Triolo G, Giacomelli R. 2017. H-ferritin and pro-inflammatory cytokines are increased in the bone marrow of patients affected by macrophage activation syndrome. *Clinical & Experimental Immunology*, 191(2):220–228.
- Sagir A, Ney D, Oh J, Pandey S, Kircheis G, Mayatepek E, Häussinger D. 2015. Evaluation of Acoustic Radiation Force Impulse Imaging (ARFI) for the Determination of Liver Stiffness Using Transient Elastography as a Reference in Children. *Ultrasound International Open*, 1(1):E2–E7.
- Sarrazin C, Berg T, Ross RS, Schirmacher P, Wedemeyer H, Neumann U, Schmidt HHJ, Spengler U, Wirth S, Kessler HH, Peck-Radosavljevic M, Ferenci P, Vogel W, Moradpour D, Heim M, Cornberg M, Protzer U, Manns MP, Fleig WE, Dollinger MM, Zeuzem S. 2010. Update der S 3-Leitlinie Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Hepatitis-C-Virus(HCV)-Infektion, AWMF-Register-Nr.: 021 / 012. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, 48(2):289–351.
- Sarvazyan A, Hall TJ, Urban MW, Fatemi M, Aglyamov SR, Garra BS. 2011. An overview of elastography - An emerging branch of medical imaging. *Current Medical Imaging Reviews*, 7(4):255–282.
- Sarvazyan AP, Rudenko OV, Swanson SD, Fowlkes JB, Emelianov SY. 1998. Shear wave elasticity imaging: a new ultrasonic technology of medical diagnostics. *Ultrasound in Medicine and Biology*, 24(9):1419–1435.
- Schaffner M, Rosenstein L, Ballas Z, Suneja M. 2017. Significance of Hyperferritinemia in Hospitalized Adults. *The American Journal of the Medical Sciences*, 354(2):152–158.
- Schönnagel BP, Fischer R, Nielsen P, Grosse R, Adam G, Yamamura J. 2013. Eisenquantifizierung mittels MRT bei Eisenüberladung. *Fortschr Röntgenstr*, 185(07):621–627.
- Schweser F, Krumbein I, Herrmann KH, Mentzel HJ, Reichenbach JR. 2014. Which one is most accurate and has highest precision? - A comprehensive analysis of T2(\*) estimation techniques. In: *Proceedings of International Society for Magnetic Resonance in Medicine Annual Meeting (Milan, Italy)*, Bd 22.
- Speer CP, Gahr M, Dötsch J, Hrsg. 2019. *Pädiatrie. Fünfte Aufl.* Berlin, Heidelberg: Springer Verlag. ISBN 978-3-662-57294-8.
- Sreedharan A, Bowyer S, Wallace CA, Robertson MJ, Schmidt K, Woolfrey AE, Nelson J R P. 2006. Macrophage activation syndrome and other systemic inflammatory conditions after BMT. *Bone Marrow Transplantation*, 37(7):629–634.
- St Pierre TG, Clark PR, Chua-anusorn W, Fleming AJ, Jeffrey GP, Olynky JK, Pootrakul P, Robins E, Lindeman R. 2005. Noninvasive measurement and imaging of liver iron concentrations using proton magnetic resonance. *Blood*, 105(2):855–861.

- 
- Stenzel M, Mentzel HJ. 2014. Ultrasound elastography and contrast-enhanced ultrasound in infants, children and adolescents. *European Journal of Radiology*, 83(9):1560–1569.
- Tanner M, He T, Westwood M, Firmin D, Pennell D. 2006. Multi-center validation of the transferability of the magnetic resonance T2\* technique for the quantification of tissue iron. *Haematologica*, 91(10):1388–1391.
- Trout AT, Dillman JR, Xanthakos S, Kohli R, Sprague G, Serai S, Mahley AD, Podbesky DJ. 2016. Prospective Assessment of Correlation between US Acoustic Radiation Force Impulse and MR Elastography in a Pediatric Population. *Radiology*, 281:544–552.
- Tsitsikas DA, Nzouakou R, Ameen V, Sirigireddy B, Amos RJ. 2014. Comparison of serial serum ferritin measurements and liver iron concentration assessed by MRI in adult transfused patients with sickle cell disease. *European Journal of Haematology*, 92(2):164–167.
- Vag T. 2013. Nicht-invasive MR-tomographische Lebereisenmessung bei Kindern und Jugendlichen mit akuter Leukämie. [Dissertation] Jena: Friedrich Schiller Universität.
- Vag T, Kentouche K, Krumbein I, Reichenbach JR, Lopatta E, Renz DM, Stenzel M, Beck JF, Kaiser WA, Mentzel HJ. 2011. Noninvasive measurement of liver iron concentration at MRI in children with acute leukemia: initial results. *Pediatric Radiology*, 41:980–984.
- Villeneuve J, Bilodeau M, Lepage R, Cote J, Lefebvre M. 1996. Variability in hepatic iron concentration measurement from needle-biopsy specimens. *Journal of Hepatology*, 25(2):172–177.
- Wilhelm W, Hrsg. 2013. *Praxis der Intensivmedizin: konkret, kompakt, interdisziplinär*, Kap 31. Zweite Aufl. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, S.460–S.464. ISBN 978-3-642-34432-9.
- Wood JC, Enriquez C, Ghugre N, Tyzka JM, Carson S, Nelson MD, Coates TD. 2005. MRI R2 and R2\* mapping accurately estimates hepatic iron concentration in transfusion-dependent thalassemia and sickle cell disease patients. *Blood*, 106(4):1460 – 1465.
- Wood MJ, Crawford DHG, Wockner LF, Powell LW, Ramm GA. 2017. Serum ferritin concentration predicts hepatic fibrosis better than hepatic iron concentration in human HFE-Haemochromatosis. *Liver International*, 37(9):1382–1288.
- Xiao G, Zhu S, Xiao X, Yan L, Yang J, Wu G. 2017. Comparison of laboratory tests, ultrasound, or magnetic resonance elastography to detect fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A meta-analysis. *Hepatology*, 66(5):1486–1501.

- 
- Yablonskiy DA, Haacke EM. 1994. Theory of NMR signal behavior in magnetically inhomogeneous tissues: The static dephasing regime. *Magnetic Resonance in Medicine*, 32(6):749–763.
- Youden WJ. 1950. Index for rating diagnostic tests. *Cancer*, 3(1):32–35.
- Zhang M, Mendiratta-Lala M, Maturen KE, Wasnik AP, Wang SS, Assad H, Rubin JM. 2019. Quantitative Assessment of Liver Stiffness Using Ultrasound Shear Wave Elastography in Patients With Chronic Graft-Versus-Host Disease After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Pilot Study. *Journal of Ultrasound in Medicine*, 38(2):455–461.

# Abbildungsverzeichnis

3.1	Darstellung einer Eisenüberladung in der MRT . . . . .	8
3.2	Auswertung der MR-Relaxometrie . . . . .	9
3.3	ROI einer SWE im <i>B-Mode</i> Bild . . . . .	14
6.1	Streudiagramm zum Vergleich Sequenzparameter . . . . .	21
7.1	Altersklassen der Patienten . . . . .	25
7.2	Lagerung zur Ultraschall-Untersuchung . . . . .	27
8.1	ROC-Analyse des „HepScores“ sowie der SWE . . . . .	35
8.2	Boxplots des „HepScores“ bei erhöhter und normaler SWE . . . . .	36
8.3	Verlaufsmessungen mittels SWE, MRT sowie des „HepScores“ . . . . .	37
8.4	Boxplots der Verlaufsmessungen . . . . .	41
8.5	Verlaufsgrafik einer Patientin nach SZT . . . . .	45
8.6	ROC-Diagramm von SF und T2* . . . . .	46

# Tabellenverzeichnis

6.1	Übersicht über die verwendeten Sequenzparameter . . . . .	20
7.1	Diagnosen der untersuchten Patienten . . . . .	24
7.2	Patientenalter und -geschlecht . . . . .	24
8.1	Komplikationen der SZT . . . . .	33
8.2	Gegenüberstellung der SWE-Gruppen . . . . .	34
8.3	Ergebnisse der longitudinalen Analysen . . . . .	42
8.4	Vergleich der Messzeitpunkte im <i>Wilcoxon</i> -Test . . . . .	43
8.5	Korrelationen nach <i>Spearman</i> von SF und MR-Fe . . . . .	43
D.1	Referenzwerte . . . . .	XXVII
D.2	Ermittelte Grenzwerte . . . . .	XXVII
D.3	Schema zur Berechnung des „HepScores“ . . . . .	XXVIII



---

D.4	Altersabhängige Normwerte zur Berechnung des „HepScores“ . . . . .	XXIX
E.1	<i>METAVIR</i> -Score . . . . .	XXX
E.2	Schweregrade der GvHD . . . . .	XXXI
E.3	Stadien der GvHD an der Haut . . . . .	XXXI
E.4	Stadien der GvHD in der Leber . . . . .	XXXI
E.5	Stadien der GvHD am Darm . . . . .	XXXII

# A Wissenschaftliche Kooperationen

Diese Arbeit entstand in enger Zusammenarbeit mit Frau Ines Krumbein und Herrn Dr. Karl-Heinz Herrmann von der AG Medizinische Physik, IDIR<sup>1</sup>, Universitätsklinikum Jena (UKJ) sowie der Abteilung für Hämatologie und Onkologie, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, UKJ, insbesondere mit Herrn OA Dr. K. Kentouche.

## Weitere Kooperationen

Ein Teil der Untersuchungen erfolgte in Unterstützung durch die Novartis AG, Basel / Schweiz.

---

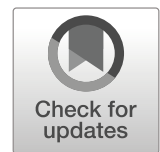
<sup>1</sup>Institut für Diagnostische und Interventionelle Radiologie

## B Schriftliche Veröffentlichungen

Nachfolgend werden die aus dieser Arbeit hervorgegangenen Publikationen angefügt.

Wurschi, G. W.; Kentouche, K.; Herrmann, K.-H.; Krumbein, I.; Nold, M.; Beck, J. F.; Reichenbach, J. R. & Mentzel, H.-J. 2019. *Evaluation of liver tissue by ultrasound elastography and clinical parameters in children with multiple blood cell transfusions*. Pediatric Radiology. 49(7), 897-905. <https://doi.org/10.1007/s00247-019-04382-9>

Wurschi, G. W.; Mentzel, H.-J.; Herrmann, K.-H.; Krumbein, I.; Beck, J. F.; Reichenbach, J. R. & Kentouche, K. 2019. *MRI as an alternative to serum ferritin for diagnosis of iron overload in children in the context of immune response after stem cell transplantation*. Pediatric Transplantation. [ePub: 00:e13583. <https://doi.org/10.1111/petr.13583>].



# Evaluation of liver tissue by ultrasound elastography and clinical parameters in children with multiple blood cell transfusions

Georg W. Wurschi<sup>1</sup> · Karim Kentouche<sup>2</sup> · Karl-Heinz Herrmann<sup>3</sup> · Ines Krumbein<sup>3</sup> · Mariana Nold<sup>4</sup> · James F. Beck<sup>2</sup> · Jürgen R. Reichenbach<sup>3</sup> · Hans-Joachim Mentzel<sup>1</sup> 

Received: 28 June 2018 / Revised: 23 January 2019 / Accepted: 8 March 2019 / Published online: 29 March 2019  
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2019

## Abstract

**Background** Children receiving multiple blood cell transfusions are prone to iron overload and successive tissue damage in liver parenchyma, making noninvasive screening options desirable. Ultrasound (US) elastography using acoustic radiation force impulse (ARFI) imaging enables evaluation of liver parenchyma stiffness, and MRI allows for quantification of liver iron concentration.

**Objective** The objective was to correlate US elastography with MRI in children who had undergone bone marrow transplantation and to evaluate the modification of liver tissue with US in combination with clinical parameters at follow-up.

**Materials and methods** ARFI, T2\*-weighted MRI and a clinical score (HepScore, based on parameters of liver function) were performed in 45 patients (24 male; mean age 9.7 years) before and 100 days and 365 days after transplantation. All received multiple blood transfusions (mean number 22.2 up until 1 year after transplantation). We correlated US findings and HepScore with MRI findings.

**Results** We observed signs of iron accumulation in 29/45 (64.4%) patients on MRI (T2\* < 10 ms) and 15/45 (33.3%) showed increased tissue stiffness (ARFI > 5.5 kPa). Correlation of elastography and MRI was not significant ( $P=0.57$ ;  $n=51$  matched measurements). Comparing US elastography with HepScore in receiver operating characteristic (ROC) curve analysis indicated a cut-off for affected parenchyma if HepScore was > 5 points (sensitivity 67%, specificity 68%). Simultaneous increases of both indicated tissue alteration.

**Conclusion** Combining US and HepScore enabled detection of liver tissue alteration through iron overload, but we found no direct significant effect of estimated iron from MRI on ARFI imaging.

**Keywords** Acoustic radiation force impulse imaging · Blood transfusion · Children · Elastography · Iron overload · Liver · Ultrasound

✉ Hans-Joachim Mentzel  
hans-joachim.mentzel@med.uni-jena.de

<sup>1</sup> Section of Pediatric Radiology,  
Institute of Diagnostic and Interventional Radiology,  
University Hospital of Friedrich Schiller University Jena,  
Am Klinikum 1, 07747 Jena, Germany

<sup>2</sup> Section of Pediatric Hematology and Oncology,  
Department of Pediatrics,  
University Hospital of Friedrich Schiller University Jena,  
Jena, Germany

<sup>3</sup> Medical Physics Group,  
Institute of Diagnostic and Interventional Radiology,  
University Hospital of Friedrich Schiller University Jena,  
Jena, Germany

<sup>4</sup> Department of Medical Statistics, Informatics and Documentation,  
University Hospital of Friedrich Schiller University Jena,  
Jena, Germany

## Introduction

Children with hematologic diseases, such as acute leukemia, sometimes receive numerous packed red blood cell transfusions during therapy. Each transfusion contains approximately 200 mg ferrous ions, which is highly above normal nutritional intake [1]. Iron overload from repeated transfusions can cause liver fibrosis and loss of liver function and can affect the heart and neuronal or endocrine organs [2–4]. Therapy with chelating agents might be indicated in these children to reduce iron overload. Liver biopsy is the only reliable method to assess specific cellular liver iron concentration, which represents the amount of ferric ions per gram of dry liver tissue  $\left[\frac{\text{mgFe}^{2+}}{\text{g}}\right]$ , and the degree of liver damage. But this invasive procedure is not always feasible and recommendable, especially in children. Usually, iron levels are estimated by ferritin levels, but those

increase in relation to an acute-phase reaction to leukemia or many other factors without increased iron intake [1, 4–9]. Thus, ferritin reveals low specificity for iron overload.

Former studies in people with repeated transfusions confirmed magnetic resonance (MR) relaxometry as a more reliable tool compared to serum ferritin [8, 10–13]. Gradient recalled echo sequences for determining T2\* relaxation times are more sensitive in identifying (mild) iron overload than methods based on extracting T2\* relaxation times with spin-echo sequences [11, 14, 15]. Furthermore, the short acquisition time allows for data acquisition during breath-hold [11, 16, 17]. Now, MR relaxometry utilizing the paramagnetic effect of iron [12, 13] is accepted as a noninvasive gold standard for estimating liver iron concentration [18]; a cut-off for increased liver iron load was reported to be T2\* < 10 ms [12].

Ultrasound elastography with acoustic radiation force impulse (ARFI) imaging is an established technique to assess liver stiffness and suspected fibrosis in adults [19] and children [20, 21]. The shear wave velocity is directly related to tissue stiffness [19].

Toxic effects of iron can cause liver tissue damage and increase ARFI values secondarily. Our intention was to combine ARFI with serum parameters to better distinguish liver damage from other influencing factors; alteration of parenchyma should be detectable by monitoring serum parameters as well as increased ARFI.

The aim of this study was to evaluate the suitability of ultrasound elastography for assessing liver tissue damage in the context of iron overload complemented with clinical parameters, and correlate it with MR relaxometry as a reference.

## Materials and methods

### Study design and population

We included children and young adults who had undergone bone marrow transplantation from 2014 to 2017 if they routinely underwent MRI during their pre- and post-bone marrow transplantation examinations to screen for secondary lesions or neoplasm (age < 18 years on first consultation). They were transplanted because of different hematological diseases, notably leukemia:  $n=20$  had acute lymphoblastic leukemia (ALL);  $n=10$  had acute myeloid leukemia (AML);  $n=5$  had myelodysplastic syndromes (MDS);  $n=2$  had lymphoma; and  $n=8$  had various other diseases (Ewing sarcoma, Fanconi anemia, hemophagocytic lymphohistiocytosis, neuroblastoma, juvenile myelomonocytic leukemia).

A total of 45 patients (24 male) received liver T2\* relaxometry and ARFI imaging in a prospective study design (see Table 1 for patient characteristics). Blood was sampled in parallel to determine transaminases,  $\gamma$ -glutamyltransferase, C-reactive protein, alkaline phosphatase, cholinesterase and

direct bilirubin. The examinations were usually scheduled before bone marrow transplantation as well as on day 100 and 1 year after bone marrow transplantation. We included additional matching values of MRI, HepScore and ARFI in individual follow-up evaluation if available, enabling us to see more detailed trends, especially for ARFI, and sometimes even longer observation periods (up to 5 years for single patients).

All patients, parents or persons responsible for care and custody of the child gave their informed consent prior to evaluation. This study was performed in accordance with the ethical standards of the institution and with the principles of the 1964 Declaration of Helsinki and its amendments; we received a local ethical approval (No. 4130–07/14).

### Magnetic resonance (MR) relaxometry

No biopsies were performed to determine liver iron concentration, so we used MR relaxometry as the reference standard to calculate liver iron concentration from T2\*. MRI was performed on a 1.5-T clinical MR scanner (Avanto; Siemens Healthineers, Erlangen, Germany) using the standard spine and body phased-array coils; between one and nine measurements per patient were included ( $n=137$  recorded values). Following standard imaging sequences, T2\* acquisition was repeatedly performed during breath-hold with children lying supine in head-first orientation. Gradient sequences with three parameter sets were applied; the region of interest was placed in the right liver lobe (Fig. 1). The original MR protocol by Wood et al. [22] was optimized toward estimating short T2\* values, which is necessary to assess high liver iron concentration.

To be able to cover a wide range of T2\* values during routine examinations, one of three MRI sequence protocols (Table 2) was chosen after T2\* fitting with noise bias correction [23]. They were better adapted to longer T2\* in long-term monitoring of children after bone marrow transplantation, when iron load slowly decreases and liver T2\* values become gradually longer.

The liver iron concentration was estimated from T2\* based on Wood's conversion [22] — subsequently called “MR-Fe<sup>2+</sup>” — and is expressed in mg of Fe<sup>2+</sup> in g of dry liver tissue  $[\frac{\text{mgFe}^{2+}}{\text{gLP}}]$ .

### Ultrasound elastography

Ultrasound elastography was performed in the same study population ( $N_{\text{total}} = 105$  values; between 1 and maximal 11 measurements per patient) in a timely manner to MRI ( $\pm 2$  days). Not all examinations were recorded within this time frame, so the number of matching MR and ARFI assessments was less (51 pairs of MRI and ARFI) than the recorded

**Table 1** Patient characteristics at the time of transplantation ( $n=45$ ; 24 boys, 21 girls) and complications

Characteristics	Mean value $\pm$ standard deviation
Age (years)	9.7 $\pm$ 6.4
Weight (kg)	35.5 $\pm$ 20.1
Height (cm)	137.4 $\pm$ 32.4
Body mass index in ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	17.7 $\pm$ 3.1
Complications after transplantation	Number of patients
Relapse during follow-up	2/45
Veno-occlusive disease	2/45
Graft-versus-host disease	3/45
Further relevant incidents	
Infectious hepatitis (pre-existing, treated)	1/45

number of both to matching HepScore values because blood was drawn nearly daily and was therefore available for every MRI and ARFI examination.

All examinations were carried out by an experienced pediatric radiologist, to avoid inter-observer variability, with an iU22 ultrasound system (Philips Healthcare, Eindhoven, The Netherlands) using a C5–1 curved-array probe with patients in supine position and right arm over the head. The region of interest (size  $1 \text{ cm}^2$ ) was placed with sonographic B-mode control (transcostal view in mid-axillary line, Fig. 2) in the right liver lobe (segments VI or VII) and was further set with 3-cm distance from the capsule while taking care not to include large vasculature to avoid errors by impedance shifts from liquids or the fibrotic capsule. The regions analyzed with ARFI and MRI were comparable in each child. ARFI was repeated 10 times during breath-hold, and we used the median value, measured in kilopascals (kPa), for the final estimation of liver stiffness. When young patients were not capable of following instructions, such as performing breath-holds and remaining calm, they were not included in the study. ARFI was performed in infants while they “vocalized.”

Because fluid levels of the biliary tract are influencing liver stiffness [24, 25], fasting might be required for more reliable results [26] but was not feasible in all young patients. To

minimize this impact and improve the image quality for bordering tissue regions, ARFI was performed in the morning before noon and intake of greater meals.

For children, age- and gender-dependent normal values between 4.4 kPa and 5.7 kPa have been reported [20, 21, 27, 28]; ARFI values  $>5.5$  kPa were considered as elevated in this study [28]. We chose this limit, which implies slightly increased tissue stiffness, as a possible sign of beginning remodeling processes — in contrast to other studies where ARFI was applied for diagnostics of early fibrosis stages with higher limits [29] — to increase the sensitivity in the context of early screening evaluation.

## HepScore

Commonly used scores like APRI-index, Pohl-score, or Forá's index include parameters, such as thrombocytes or albumin levels, that are known to be less significant in the context of hematopoietic disorders or reduced nutritional status [30, 31]. The HepScore avoids these parameters but includes the following ones: alanine transaminase, aspartate transaminase,  $\gamma$ -glutamyltransferase, C-reactive protein, alkaline phosphatase, choline esterase and bilirubin. Each parameter is scored with 1 point when its value is increased up to twice the normal value, depending on the age of the patient, and each parameter is scored with two points if the value is higher (Table 3). Values within the age-dependent normal range are scored with 0 points. Because of the large increase in inflammatory reactions, C-reactive protein is scored with 1 point for up to 10 times the normal value ( $<75 \text{ mg/L}$ ) and with 2 points if higher. Bilirubin is only scored with 2 points if increased; values below are counted with 0 points because increases higher than the normal value range are associated with graver alteration of liver function and are not usually observed in early stages of parenchyma changes. Rating with 1 point for lower values would not increase the discrimination of the score because of this late manifestation. Overall, score values for our population ranged 0–14 points. Scores were derived



**Fig. 1** Region of interest is drawn for MRI in an 8-year-old boy during treatment for acute myeloid leukemia. T2\*-weighted axial MRI (gradient recalled-echo sequence;  $T2^*=5.6 \text{ ms}$ ) shows the liver parenchyma is hypointense after 22 transfusions

**Table 2** Sequence parameters of the three MRI acquisitions performed for each child

Sequence	Repetition time (TR), ms	Echo time (TE), ms	Field of view (FOV), mm	Matrix	Flip angle, degrees	Bandwidth, Hz/pixel	Slice thickness, mm
In-phase	48	4.75–34.20 $\Delta$ TE=4.8	238×380	160×256	20	279	4
Single-echo	17	2.25–8.97 $\Delta$ TE=1.12	238×380	160×256	20	1,628	4
Multi-echo	12	0.81–10.31 $\Delta$ TE=0.3	321×380	54×64	20	1,735	15

from the blood samples drawn within  $\pm 2$  days of each measurement date of ARFI.

### Correlation analysis

Pearson's  $r$  was calculated as a measure of the correlation between MR-Fe<sup>2+</sup> and ARFI as well as between MR-Fe<sup>2+</sup> and the HepScore. Further, correlation analysis between HepScore and liver stiffness was performed by Pearson's  $r$ . We grouped data into two classes associated with increased liver stiffness (ARFI > 5.5 kPa) and normal stiffness. We assessed the accuracy in diagnosing increased liver stiffness with receiver operating characteristic (ROC) curve analysis of ARFI in relation to HepScore. A cut-off for elevated HepScore was calculated by Youden's index. We grouped T2\* with respect to normal or increased HepScore and performed unpaired  $t$ -tests to identify significantly different mean values between these groups. We used SPSS v23 (IBM, Armonk, NY) and Excel (Microsoft, Redmond, WA) for statistical analyses and artwork creation; results are referred to in 95% confidence intervals (CI), with a 5% significance level.

Follow-up evaluation was performed if at least three related values had been registered for each parameter ( $n=18$  children). We plotted ARFI, HepScore and MRI values graphically

together with the total number of administered red blood cell transfusions (minimal time of follow-up 1 year, maximum 5 years).

### Results

We included 45 patients (mean age 9.7 years  $\pm$  6.4 years [standard deviation, or SD] at bone marrow transplantation; minimal age: 0.7 years; maximum: 23.4 years); the age pattern is specified in Fig. 3; the greatest proportion of children was younger than 4 years at bone marrow transplantation ( $n=14$ ) and another greater part was 13–19 years ( $n=11$ ). Four other patients were younger than 7 years, eight younger than 10 years and five younger than 13 years, and three were adults when they were transplanted. As listed in Table 1, two of them showed a relapse during follow-up, another two revealed veno-occlusive disease. Graft-versus-host disease occurred in three patients and one was successfully treated for infectious hepatitis before bone marrow transplantation.

Signs of iron accumulation were observed on MR images (T2\* < 10 ms [12]) in 29/45 patients (64%) at least one time during follow-up, and increased liver tissue stiffness showed in ARFI (> 5.5 kPa [28]) imaging in 15/45 patients (33%)

**Fig. 2** Follow-up US in an 8-year-old boy during treatment for acute myeloid leukemia (same patient as in Fig. 1, 1 year after bone marrow transplantation). Ultrasound illustrates the B-mode assisted placement of the region of interest for acoustic radiation force impulse imaging in segment VII. Liver stiffness was in the normal range (3.55 kPa)





**Table 3** Normal values for HepScore calculation<sup>a</sup>

Age	0.5–4 years		<7 years		<10 years		<13 years		<19 years		Adults	
Gender	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
ALAT [ $\mu\text{mol/L}$ ]	<0.5	<0.33	<0.33	<0.42	<0.42	<0.42	<0.5	<0.33	<0.5	<0.33	<0.74	<0.56
ASAT [ $\mu\text{mol/L}$ ]	<0.83	<0.83	<0.75	<0.75	<0.76	<0.76	<0.68	<0.68	<0.58	<0.58	<0.58	<0.52
$\gamma\text{GT}$ [ $\mu\text{mol/L}$ ]	<0.65	<0.65	<0.37	<0.37	<0.37	<0.37	<0.37	<0.37	<0.7	<0.4	<0.92	<0.63
AP [ $\mu\text{mol/L}$ ]	2.5–5.5	2.5–5.8	2.4–5.4	2.4–5.6	2.4–6.5	2.6–6.1	2.5–6.0	2.7–6.8	1.2–3.2	0.7–1.9	0.7–2.2	0.7–2.2
ChE [ $\mu\text{mol/L}$ ]	75–190	65–180	75–190	65–180	75–190	65–180	75–190	65–180	75–190	65–180	75–190	65–180
CRP [mg/L]	<7.5	<7.5	<7.5	<7.5	<7.5	<7.5	<7.5	<7.5	<7.5	<7.5	<7.5	<7.5
Bilirubin [ $\mu\text{mol/L}$ ]	<17	<17	<17	<17	<17	<17	<17	<17	<17	<17	<21	<21

<sup>a</sup> Values depend on patient age groups represented in this study population

ALAT alanine transaminase, AP alkaline phosphatase, ASAT aspartate transaminase, ChE choline esterase, CRP C-reactive protein, F female,  $\gamma\text{GT}$  gamma-glutamyltransferase, M male

compared to their corresponding earlier measurements (Figs. 1 and 2). But these groups did not correspond sufficiently in ROC curve analysis (area under the curve [AUC]=0.50; 95%–CI: 0.32–0.67).

MR-Fe<sup>2+</sup> values ranged from 0.14 mg Fe<sup>2+</sup>/g to 22.82 mg Fe<sup>2+</sup>/g (mean [M]<sub>MR-Fe2+</sub> = 5.58 mg Fe<sup>2+</sup>/g  $\pm$  5.02 mg Fe<sup>2+</sup>/g SD,  $n$ =137 values). The patients received a cumulated total of 22.2 transfusions on average (minimum 4 and maximum 49) between first transfusion before and 1 year after bone marrow transplantation.

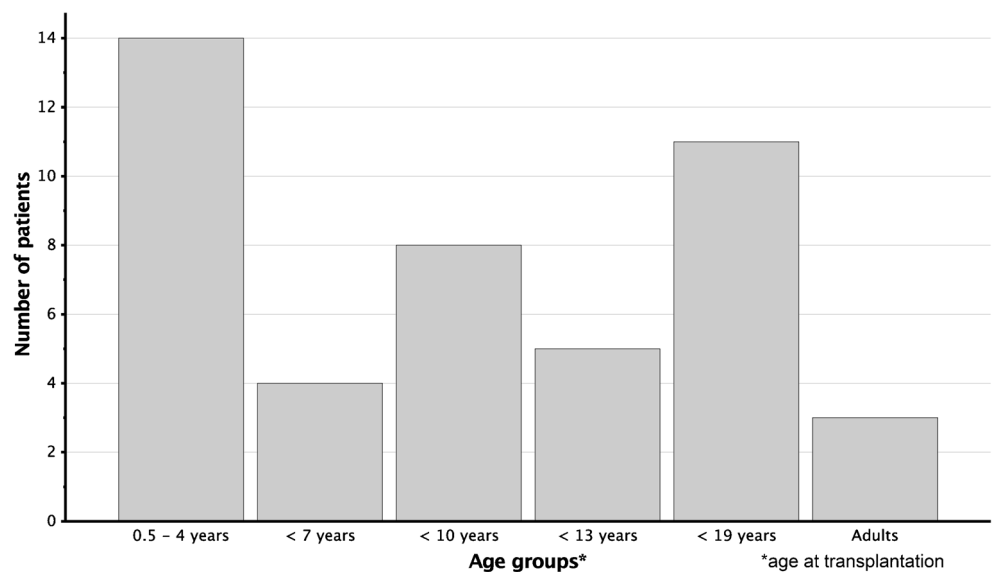
ARFI values ranged 1.29–11.6 kPa (mean $\pm$ SD: 4.87  $\pm$  1.84 kPa;  $n$ =105). Applying the reported cut-off value of >5.5 kPa [21], overall 29/105 measurements were considered as being elevated. The mean value of these increased ARFI values (>5.5 kPa; mean $\pm$ SD: 7.21 $\pm$ 1.65 kPa;  $n$ =29) was significantly higher (standard error [SE]=0.25;  $P$ <0.001) compared to the mean of the group with normal ARFI values (mean $\pm$ SD: 3.98 $\pm$ 0.87 kPa;  $n$ =76). We calculated the

HepScore for these 105 measurements and then grouped them by increased and normal matched ARFI values.

There was no significant correlation between the findings of ARFI and MRI (Pearson's  $r$ =−0.08, 95%–CI: −0.37–0.20;  $P$ =0.57;  $n$ =51 matched values). We observed a weak correlation between HepScore and MR relaxometry ( $r$ =0.19, 95%–CI: 0.02–0.36;  $P$ =0.03;  $n$ =137), which was not strong enough to justify a direct influence of liver iron concentration to this score.

Receiver-operator curve analysis of the HepScore related to the associated ARFI values (Fig. 4) revealed good accuracy as reflected by an AUC of 0.72 (95% CI: 0.61, 0.93;  $n$ =105). A suitable cut-off for HepScore was found for values >5 by calculating Youden's index (sensitivity=67%; specificity=68%). Values >5 were associated with increased liver stiffness. Because the parameters included in the score increase when pathological processes occur in the liver, they indicate impaired liver function. To analyze this screening approach, we formed two groups of data based on the applied threshold for ARFI

**Fig. 3** Number of included patients in different age groups on the basis of the patient's age at the time of bone marrow transplantation (BMT). The classification corresponds to the age groups required for normal values of parameters to calculate the HepScore (see Table 3)





(5.5 kPa): one group was related to likely normal liver parenchyma ( $\text{ARFI} \leq 5.5$  kPa;  $n=76$ ); the other was related to increased parenchyma stiffness ( $\text{ARFI} > 5.5$  kPa;  $n=29$ ; Fig. 5). The group with increased parenchyma stiffness had a greater interquartile range and a greater variance than the other group, and the mean HepScore value was significantly higher in unpaired *t*-test analysis ( $M[\text{HepScore}]_{\text{normal ARFI}}=3.64$ ; 95% CI: 3.04, 4.24;  $n=76$  vs.  $M[\text{HepScore}]_{\text{increased ARFI}}=5.72$ ; 95% CI: 4.57, 6.88;  $n=29$  with  $P=0.002$ ). The mean value in the latter group, associated with increased parenchyma stiffness, can be classified as increased regarding the limit ( $>5$  points); contrarily, the mean HepScore was not increased in the first group.

In an example of the follow-up of a single child, Fig. 6 displays a trend of the recorded parameters after bone marrow transplantation. These values were registered during routine follow-up of a 7-year-old boy with ALL between March 2015 and August 2016; he had a stem cell transplant in July 2015.

During his treatment, a total of 11 blood transfusions were administered. He received most of them after his bone marrow transplantation, and they increased leading up to September 2015. The liver iron concentration, estimated from MRI, consequently rose. There were only three MRI values available and no MRI was performed directly after bone marrow transplantation because of isolation. ARFI remained low until bone marrow transplantation and rose to its peak afterward, but normalized within the next months. The HepScore reproduced this trend during bone marrow transplantation, but showed

higher values in March 2015, which might have been confounded by liver effects from the disease.

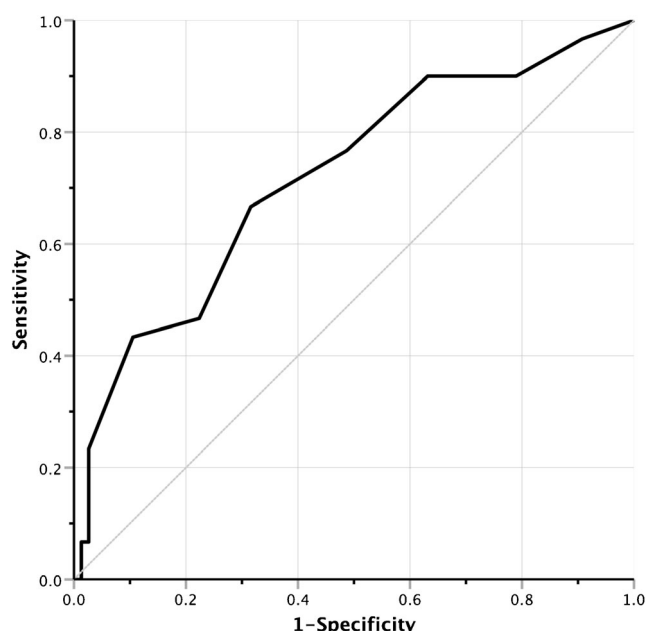
## Discussion

MRI is a true alternative for needle biopsies in assessing liver iron concentration [11, 13], but it is also a relatively costly modality. An assessment is practical in the context of routinely planned screening. We achieved satisfying image quality for lower liver-iron concentration levels when using the sequence parameters described (Table 2). T2\* was therefore used to calculate liver iron concentration as reference.

Various studies recommend ARFI for noninvasive diagnostics of increasing parenchyma stiffness as part of remodeling processes [19, 26, 31–34]. It might be sufficient for early detection of tissue damage, but ARFI imaging is not applicable for primary prevention screening; rather, ARFI serves as surrogate marker if structural changes have already occurred. As we did not observe a significant correlation between the liver iron concentration measurement on MRI and the elasticity values, the ARFI values are probably not influenced by iron but by other factors related either to treatments or to complications in serious ontological pathologies.

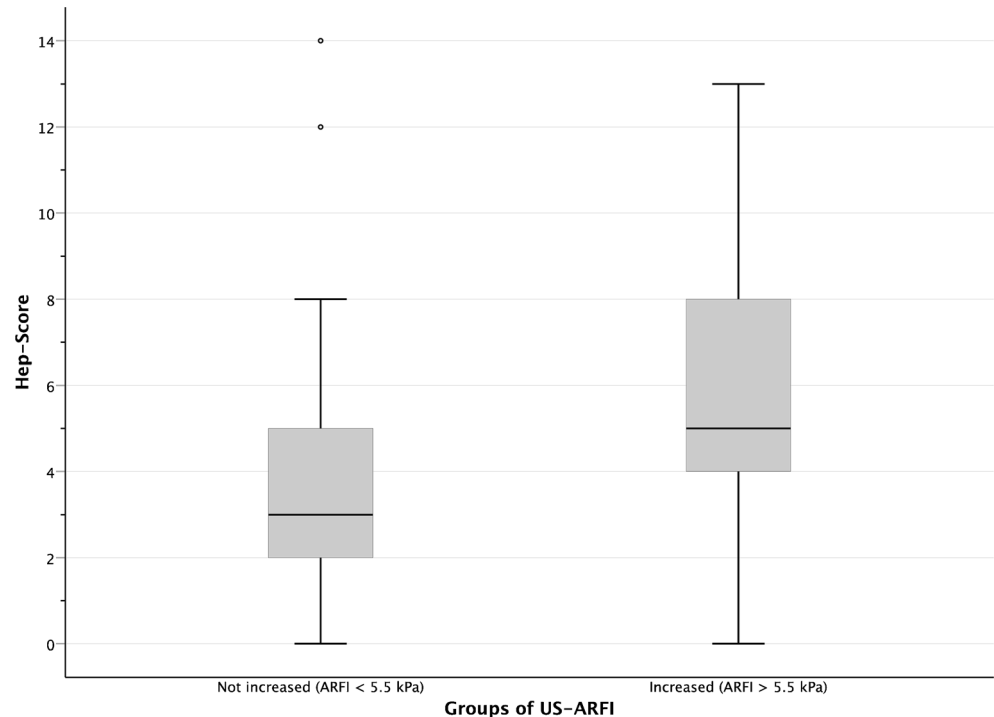
The ARFI limits vary in the literature depending on the machines and probes used [29], the specific cohort studied, and the associated pathologies [19]. We applied the upper normal range as a limit in order to increase the sensitivity in the context of early diagnosis. Numerous influences on ARFI values could affect the diagnostic accuracy when applying a low limit. Higher limits, as reported for early fibrosis diagnostics [29], might be more recommendable because they are more specific. But they are also less sensitive; therefore complementing ARFI with the HepScore might partly resolve this problem by increasing the specificity for liver damage. We could neither ensure concrete liver iron concentration estimated from MRI nor confirm suspected tissue changes in ARFI imaging histologically by biopsies because of the risk of infection, complications, and added stress such invasiveness can cause in children, especially in the context of hematological diseases. This is an essential limitation of this study, but estimating liver iron concentration by T2\* provides sufficient information for clinical purposes [35].

Accuracy of ROC curve analysis between HepScore and ARFI was good, and further *t*-test analysis demonstrated significantly different mean values of HepScore grouped by ARFI. Based on these results, we applied the new HepScore for classification of affected liver tissue (increased if  $>5$  points). Increased ARFI values ( $>5.5$  kPa) in combination with an elevated HepScore probably imply alteration of liver tissue by means other than increasing liver iron concentration: Remodeling processes would increase parenchyma stiffness and affect liver function, e.g., manifesting in increasing



**Fig. 4** Receiver operating characteristic analysis of HepScore related to increased elastography (**bold line**). The gray diagonal indicates an area under the curve of 0.5 as reference. There is a good accuracy between the methods concerning their sensitivity and specificity. The optimum cut-off for HepScore ( $>5$  points) was determined in Youden's index analysis of this curve

**Fig. 5** Boxplot for HepScore values grouped by ultrasound elastography (acoustic radiation force impulse [ARFI]): <5.5 kPa (mean value of related HepScore: 3.64;  $n=76$ ) and >5.5 kPa (mean value of HepScore: 5.72;  $n=29$ ). HepScore values associated with increased elastography values are higher than in the group with normal elastography, including a higher median (**bold line** inside the boxes: 5 points vs. 3 points) but also show a greater variance (bigger interquartile range, displayed by the greater box). The whiskers display 1.5 times the range of 1st and 3rd quartiles; two outliers are not included in the left boxplot

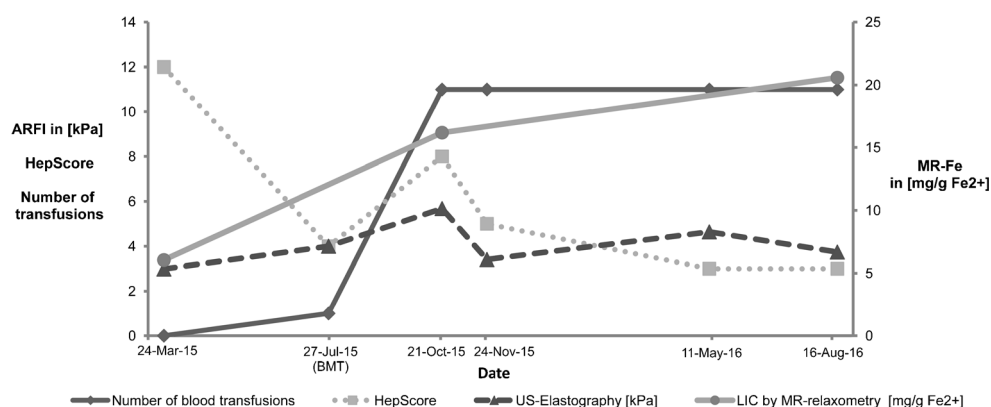


HepScore, and if there were a direct influence of liver iron concentration on elasticity without pathological remodeling, liver function as well as HepScore should remain unchanged.

Both ARFI and HepScore trends showed a transient effect of liver parenchyma by simultaneous peaks in follow-up evaluation. Solitary increases of HepScore were observed in periods of severe infections or immunological reactions as a complication of bone marrow transplantation, which indicates that this score should be used only as a complement to ARFI evaluation. Transaminases or acute-phase proteins, such as C-reactive protein, are included in this score, which could explain these interactions. Single ARFI measurements showed high variability in the charts; this could be the result of numerous influencing factors, such as patient compliance and

intra-observer variability [24, 32, 36]. Comparing ARFI values with preceding measurements or combining it with trends of clinical parameters, e.g., HepScore, can increase ARFI's validity [31].

Some other causes of increased ARFI values, i.e. prandial influences on the biliary tract, body mass index or intraobserver variability (i.e. region-of-interest placement), are not supposed to influence serum parameters of liver function [24] and could therefore be excluded as confounders for simultaneous increases in ARFI values and HepScore. Bone marrow transplantation and increased liver iron concentration often occur together; distinguishing whether one or both components caused increasing liver parenchyma stiffness was not possible. But ARFI and HepScore normalized over time, so



**Fig. 6** Liver iron trend in a 7-year-old boy who had bone marrow transplantation in July 2015, as indicated by follow-up ultrasound elastography (acoustic radiation force impulse [ARFI]), HepScore, MR relaxometry and number of blood transfusions. The HepScore and

elastography values rise simultaneously in the period after transplantation after administration of multiple transfusions (total: 11 transfusions) and normalize later. MRI indicates rising liver iron concentration (LIC) in this period

pathological changes from bone marrow transplantation or transfusion seem to be at least partly reversible.

Bone marrow transplantation itself is a severe intervention, often causing complications affecting liver parenchyma. Graft-versus-host disease and infections can cause (transient) increases of liver stiffness [33, 34, 36, 37]. Graft-versus-host disease occurred in three of our patients; two of them showed increased values of ARFI and HepScore, but MR-Fe<sup>2+</sup> was only increased in one. The third patient showed neither increased ARFI nor liver function effects by increased HepScore; MRI values were increased (related to numerous transfusions). So graft-versus-host disease seems not to have always affected liver stiffness, but the number of cases was too low for significant statements.

Non-alcoholic fatty liver disease [31, 32], infectious hepatitis [24] and veno-occlusive disease [34, 37] can cause tissue damage and therefore affect ARFI values and cause increased HepScore, e.g., because of increased transaminases. Overestimating the influence of liver iron concentration is a possible consequence. Veno-occlusive disease was diagnosed in two patients after bone marrow transplantation, but ARFI and HepScore values did not show a related increase. One other patient was treated for infectious hepatitis before bone marrow transplantation, but fibrosis was not probable for this patient because the latency after infection (>20 years [38]) is usually longer than the patient's age at examination. ARFI values were normal for this patient, whereas HepScore was partly increased.

Patients needing a stem cell transplant usually receive extensive treatments, including hepatotoxic drugs. Patients with lymphoma, Ewing sarcoma, hemophagocytic lymphohistiocytosis and neuroblastoma, specifically, received multiple chemotherapeutics, which are supposed to be at least partly hepatotoxic. The therapy of Hodgkin lymphoma was less toxic but included a high dose of steroids. Other patients only received transfusions until their transplantation, i.e. treatment of juvenile myelomonocytic leukemia (JMML), Fanconi anemia or myelodysplastic syndromes. Because of the many variable pathologies and comorbidities in this cohort, there are multiple factors influencing our results, making it difficult to reproduce their effects in detail. Nevertheless, our findings confirm those of other studies that bone marrow transplantation possibly affects liver parenchyma through iron load as well as other complications [34, 36].

## Conclusion

There is no direct significant correlation between estimated liver iron concentration from MRI and liver stiffness. ARFI imaging can nevertheless be applied for early diagnostics of remodeling processes in liver tissue after multiple blood transfusions. Complementing ARFI imaging with the HepScore can increase the specificity in diagnosis of liver parenchyma damage.

**Acknowledgments** This study was partly supported by Novartis AG, Nürnberg, Germany.

## Compliance with ethical standards

**Conflicts of interest** None


## References

- Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T et al (2008) Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *Int J Hematol* 88:7–15
- Porter JB, De Witte T, Cappellini MD, Gattermann N (2015) New insights into transfusion-related iron toxicity: implications for the oncologist. *Crit Rev Oncol Hematol* 99:261–271
- Milic S, Mikolasevic I, Orlic L et al (2016) The role of iron and iron overload in chronic liver disease. *Med Sci Monit* 22:2144–2151
- Knovich MA, Storey JA, Coffman LG et al (2009) Ferritin for the clinician. *Blood Rev* 23:95–104
- Ruscitti P, Cipriani P, Di Benedetto P et al (2017) H-ferritin and pro-inflammatory cytokines are increased in the bone marrow of patients affected by macrophage activation syndrome. *Clin Exp Immunol* 2:220–228
- Schaffner M, Rosenstein L, Ballas Z, Suneja M (2017) Significance of hyperferritinemia in hospitalized adults. *Am J Med Sci* 354:152–158
- Sreedharan A, Bowyer S, Wallace CA et al (2006) Macrophage activation syndrome and other systemic inflammatory conditions after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 37: 629–634
- Kolnagou A, Yazman D, Economides C et al (2009) Uses and limitations of serum ferritin, magnetic resonance imaging T2 and T2\* in the diagnosis of iron overload and in the ferritokinetics of normalization of the iron stores in thalassemia using the international committee on chelation deferiprone/deferoxamine combination protocol. *Hemoglobin* 33:312–322
- Otrock ZK, Daver N, Kantarjian HM, Eby CS (2017) Diagnostic challenges of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 17:105–110
- Vag T, Kentouche K, Krumbein I et al (2011) Noninvasive measurement of liver iron concentration at MRI in children with acute leukemia: initial results. *Pediatr Radiol* 41:980–984
- Paisant A, d'Assignies G, Bannier E et al (2017) MRI for the measurement of liver iron content, and for the diagnosis and follow-up of iron overload disorders. *Presse Med* 46:e279–e287
- Henninger B, Kremser C, Rauch S et al (2012) Evaluation of MR imaging with T1 and T2\* mapping for the determination of hepatic iron overload. *Eur Radiol* 22:2478–2486
- Runge JH, Akkerman EM, Troelstra MA et al (2016) Comparison of clinical MRI liver iron content measurements using signal intensity ratios, R(2) and R(2)\*. *Abdom Radiol* 41:2123–2131
- St. Pierre TG, Clark PR, Chua-Anusorn W et al (2005) Noninvasive measurement and imaging of liver iron concentrations using proton magnetic resonance. *Blood* 105:855–861
- Milford D, Bendszus M, Heiland S (2018) A novel method for T2 quantification in presence of B1 inhomogeneities. *Z Med Phys* 28: 63–72
- Quinn CT, Pierre TGS (2016) MRI measurements of iron load in transfusion-dependent patients: implementation, challenges, and pitfalls. *Pediatr Blood Cancer* 63:773–780
- Alústiza JM, Castiella A, Juan MDD et al (2007) Iron overload in the liver diagnostic and quantification. *Eur J Radiol* 61:499–506
- Tsitsikas DA, Nzouakou R, Ameen V et al (2014) Comparison of serial serum ferritin measurements and liver iron concentration

- assessed by MRI in adult transfused patients with sickle cell disease. *Eur J Haematol* 92:164–167
19. Bruno C, Minniti S, Bucci A, Mucelli RP (2016) ARFI: from basic principles to clinical applications in diffuse chronic disease — a review. *Insights Imaging* 7:735–746
20. Hanquinet S, Courvoisier D, Kanavaki A et al (2013) Acoustic radiation force impulse imaging — normal values of liver stiffness in healthy children. *Pediatr Radiol* 43:539–544
21. Engelman G, Gebhardt C, Wenning D et al (2012) Feasibility study and control values of transient elastography in healthy children. *Eur J Pediatr* 171:353–360
22. Wood JC, Enriquez C, Ghugre N et al (2005) MRI R2 and R2\* mapping accurately estimates hepatic iron concentration in transfusion-dependent thalassemia and sickle cell disease patients. *Blood* 4:1460–1465
23. Schweser F, Krumbein I, Herrmann K-H et al (2014) Which one is most accurate and has highest precision? A comprehensive analysis of T2(\*) estimation techniques. *Proceedings of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine Annual Meeting, Milan*, p 3175
24. Perazzo H, Veloso VG, Grinsztejn B et al (2015) Factors that could impact on liver fibrosis staging by transient elastography. *Int J Hepatol* 2015:624596
25. Trout AT, Dillman JR, Xanthakos S et al (2016) Prospective assessment of correlation between US acoustic radiation force impulse and MR elastography in a pediatric population. *Radiology* 281:544–552
26. Mueller-Abt PR, Frawley KJ, Greer RM, Lewindon PJ (2008) Comparison of ultrasound and biopsy findings in children with cystic fibrosis related liver disease. *J Cyst Fibros* 7:215–221
27. Sagir A, Ney D, Oh J et al (2015) Evaluation of acoustic radiation force impulse imaging (ARFI) for the determination of liver stiffness using transient elastography as a reference in children. *Ultrasound Int Open* 1:E2–E7
28. Fiege J, Mainz JG, Tabori H et al (2017) ARFI Elastographie der Leberbeteiligung bei Zystischer Fibrose. [ARFI elastography of cystic fibrosis-related liver disease (CFLD)] *Monatsschrift Kinderheilkunde* 165:888–894
29. Franchi-Abella S, Como L, Gonzales E et al (2016) Feasibility and diagnostic accuracy of supersonic shear-wave elastography for the assessment of liver stiffness and liver fibrosis in children: a pilot study of 96 patients. *Radiology* 278:554–562
30. Lörke J, Erhardt A, Vogt C, Häussinger D (2007) Nicht invasive Diagnostik der Leberzirrhose. [Noninvasive investigation of liver cirrhosis]. *Dtsch Arztebl* 104:A1752–A1757
31. Mansoor S, Collyer E, Alkhouri N (2015) A comprehensive review of noninvasive liver fibrosis tests in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Gastroenterol Rep* 17:23
32. Xiao G, Zhu S, Xiao X et al (2017) Comparison of laboratory tests, ultrasound, or magnetic resonance elastography to detect fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease: a meta-analysis. *Hepatology* 66:1486–1501
33. Karlas T, Weber J, Nehring C et al (2014) Value of liver elastography and abdominal ultrasound for detection of complications of allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 49:806–811
34. Reddivalla N, Robinson AL, Reid KJ et al (2018) Using liver elastography to diagnose sinusoidal obstruction syndrome in pediatric patients undergoing hematopoietic [sic] stem cell transplant. *Bone Marrow Transplant*. <https://doi.org/10.1038/s41409-017-0064-6>
35. Rose C, Vandevenne P, Bourgeois E et al (2006) Liver iron content assessment by routine and simple magnetic resonance imaging procedure in highly transfused patients. *Eur J Haematol* 77:145–149
36. Auberger J, Graziadei I, Clausen J et al (2012) Non-invasive transient elastography for the prediction of liver toxicity following hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 48:159–160
37. Colecchia A, Marasco G, Ravaioli F et al (2016) Usefulness of liver stiffness measurement in predicting hepatic veno-occlusive disease development in patients who undergo HSCT. *Bone Marrow Transplant* 52:494–497
38. Sarrazin C, Berg T, Ross RS et al (2010) Update der S 3-Leitlinie Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Hepatitis-C-Virus (HCV)-Infektion, AWMF-Register-Nr.: 021 / 012. [Prophylaxis, diagnosis and therapy of hepatitis C virus (HCV) infection: the German guidelines on the management of HCV infection]. *Z Gastroenterol* 48:289–351

**Publisher's note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

# MRI as an alternative to serum ferritin for diagnosis of iron overload in children in the context of immune response after stem cell transplantation

Georg W. Wurschi<sup>1</sup>  | Hans-Joachim Mentzel<sup>1</sup>  | Karl-Heinz Herrmann<sup>2</sup> |  
Ines Krumbein<sup>2</sup> | James F. Beck<sup>3</sup> | Juergen R. Reichenbach<sup>2</sup>  | Karim Kentouche<sup>3</sup> 

<sup>1</sup>Section of Pediatric Radiology, Institute of Diagnostic and Interventional Radiology, University Hospital Jena, Friedrich Schiller University, Jena, Germany

<sup>2</sup>Medical Physics Group, Institute of Diagnostic and Interventional Radiology, University Hospital Jena, Friedrich Schiller University, Jena, Germany

<sup>3</sup>Section of Pediatric Hematology and Oncology, Department of Pediatrics, University Hospital Jena, Friedrich Schiller University, Jena, Germany

## Correspondence

Karim Kentouche, Section of Pediatric Hematology and Oncology, Department of Pediatrics, University Hospital Jena, Friedrich Schiller University, Am Klinikum 1, Jena 07747, Germany.  
Email: karim.kentouche@med.uni-jena.de

## Funding information

Novartis Pharma

## Abstract

Multiple blood cell transfusions may cause iron overload or even liver fibrosis, requiring early diagnosis and intervention. SF is the standard for estimating iron levels in the body, but it also increases with inflammation. We hypothesized that  $T_2^*$  magnetic resonance (MR) relaxometry is a more accurate alternative for follow-up in pediatric patients before and after allogeneic SCT. Twenty-three children (mean age 10.2 years, 10 female, 13 male) were evaluated prospectively before SCT as well as at least 1 year after SCT with  $T_2^*$  relaxometry on a 1.5 T MR-scanner to estimate liver iron concentrations from the  $T_2^*$  values ("MR-Fe"). The results were compared with SF, while also considering CRP, and correlated with the number of transfusions. Overall, 24.3 transfusions were administered in average, mainly within 100 days of SCT (mean 10.5 units). Both MR-Fe and SF increased after SCT and decreased in the absence of new transfusions 1 year later without chelate therapy. This suggests regeneration of LP and iron loss, although the original states were not reached. Additionally, simultaneous peaks of CRP and SF were observed directly after SCT. MR-Fe did neither reveal these peaks nor was it associated with CRP ( $P = .39$ ). We postulate that these early CRP and SF peaks after SCT are probably related to inflammatory reactions and not to iron overload. Thus, SF is not reliable for iron overload diagnosis after SCT in every condition. Beside this interaction, SF and MR-Fe revealed similar accuracy. MRI, however, has practical and economical disadvantages in routine estimation of iron.

## KEYWORDS

iron overload, liver, MRI, SCT,  $T_2^*$  relaxometry

**Abbreviations:** ALL, acute lymphoblastic leukemia; AML, acute myeloid leukemia; AUC, area under the curve; BMI, Body Mass Index; BW, body weight; CI, confidence interval; CRP, C-reactive-protein; eLIC, liver iron concentration estimated by Angelucci et al<sup>23</sup> from the number of transfusions; EWS, Ewing's sarcoma; GEE, generalized estimating equation; GvHD, graft-versus-host disease; HLH, hemophagocytic lymphohistiocytosis; IL, iron load; JMML, juvenile myelo-monocytic leukemia; LIC, liver iron concentration ("true value"); LP, liver parenchyma; M, mean value; MDS, myelo-dysplastic syndrome; MR-Fe, liver iron concentration estimated from  $T_2^*$  values; MRI, magnetic resonance imaging; ROC, receiver operating characteristic; ROI, region of interest; SCT, stem cell transplantation; SF, serum ferritin; VOD, veno-occlusive disease.

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2019 The Authors. *Pediatric Transplantation* published by Wiley Periodicals, Inc.



## 1 | INTRODUCTION

Children undergoing SCT often require many blood cell transfusions during bone marrow aplasia. This results in iron overload. The iv administration bypasses physiological regulation and leads to an accumulation of ferrous ions in tissues, when physiological transport and storage capacities are exhausted.<sup>1</sup> Heart, liver, and neuronal and endocrine organs may be affected with a preference for LP and heart muscle,<sup>2-6</sup> suggesting screening of these tissues. In terminal stages, non-reversible liver fibrosis and loss of liver function can be observed.<sup>3</sup> Liver biopsy has so far been the only reliable way to assess cellular liver iron concentration (LIC). This invasive method, however, is not always feasible and recommended, especially in young patients after SCT. Nevertheless, assessment is required to diagnose early iron overload and initiate possible interventions, such as chelate therapy. Accurate iron level determination is possible by applying superconducting quantum interference device biosusceptometry, but is only available at few locations for research purposes.<sup>7</sup> Estimation of accumulated iron is possible with  $T_2^*$  MR relaxometry as the  $T_2^*$ -relaxation time constants show an inverse relationship to LIC.<sup>8,9</sup> There is a very good correlation between LIC, calculated from biopsies, and  $T_2^*$ .<sup>10,11</sup>

Alternatively, estimation of whole-body iron content is more easily performed with SF measurements if the patients are in good medical condition.<sup>2,5,12</sup> However, SF is far from being an ideal surrogate parameter of IL as it also increases in various immune responses, such as acute-phase reaction or macrophage activation.<sup>2,13</sup> Macrophages themselves can synthesize SF. Inflammation may be observed in the context of SCT due to recruitment of macrophages, especially during GvHD. Many other factors, like malnutrition and malignancy, or different liver and kidney diseases are known to affect SF levels as well.<sup>4,6,9,11,14-17</sup> It would therefore not be very reliable to consider the upper normal range of SF as the limit for iron overload. Thus, an established, higher threshold for clinically significant iron overload has been defined when the SF level exceeds 1000  $\mu\text{g/L}$  in two subsequent determinations. This criterion is used to indicate chelate therapy in patients receiving chronic transfusions, such as in cases of thalassemia.<sup>2,5,12</sup>

Whereas the specificity of rising SF levels in SCT might be inadequate due to compromised immunology, this limitation has not been described for  $T_2^*$  MR relaxometry. Therefore, we aimed to evaluate its applicability to indicate clinically significant iron overload during follow-up after SCT and compared the results with SF levels in association with CRP levels, which served as surrogate marker of inflammation.

## 2 | MATERIAL AND METHODS

We identified 58 patients, receiving SCT due to hematological/oncological indications at our institution between 2014 and 2018. The patients were included in this prospective study if they underwent allogeneic SCT, if they were younger than 18 years at initial diagnosis,

and if they received at least three MR relaxometry examinations. There were 23 patients, meeting the inclusion criteria, who were included in the analyses. Depending on clinical indications, all patients received a different number of red blood cell transfusions prior to and after SCT. There was no patient receiving chelate therapy.

A myeloablative conditioning protocol was performed on every patient prior to the transplantation. They were scheduled for  $T_2^*$  MR relaxometry before SCT and at least at day 100 and day 365 afterward. SF and CRP levels were determined on scheduled visits that occurred more often than the MRI examinations, and these additional values were included to enable a more detailed longitudinal follow-up evaluation, especially early after SCT CRP values were recorded immediately to identify inflammation (normal value: CRP <7.5 mg/L).

Informed consent was obtained from all patients and parents/legal guardians prior to the evaluation. This study was in accordance with the ethical standards of the institution and within the principle of the Declaration of Helsinki. The local ethical approval was granted (4130-07/14).

### 2.1 | MR relaxometry

MRI was performed on a 1.5 T clinical whole-body MRI scanner (Magnetom Avanto, Siemens Healthineers). For relaxometry, a  $T_2^*$ -weighted gradient-recalled echo sequence was applied during breath hold (time of repetition—TR 12 ms, echo times—TE 0.81–10.31 ms, flip angle 20°, slice thickness 15 mm, field of view [321 × 380] mm<sup>2</sup>).  $T_2^*$ -relaxation time constants were extracted from the data within a ROI following appropriate signal processing. These  $T_2^*$  values (ms) were subsequently used to estimate the corresponding LIC based on the approach described by Wood et al (Equation 1)<sup>10,11</sup> ("MR-Fe," expressed in mg of Fe<sup>2+</sup> per g of dry liver tissue [mg Fe<sup>2+</sup>/g]).

$$\text{MR-Fe} \left[ \frac{\text{mg Fe}^{2+}}{\text{g}} \right] = 0.0254 * \frac{1}{T_2^*} + 0.202. \quad (1)$$

### 2.2 | SF

Blood samples were analyzed by using a two-step immunoassay ("ARCHITECT," Abbott Laboratories). Usually, samples were taken twice a week after SCT, although this frequency also depended on the general health condition and related complications during the subsequent follow-up, making hospitalization necessary.

We selected a threshold of SF >1000  $\mu\text{g/L}$ <sup>2,12</sup> as an indicator for relevant iron overload, which is above the normal range,<sup>3</sup> but was intended to increase the specificity in the context of inflammation.

### 2.3 | IL

The so-called "IL" estimates the maximum iron incorporation, which can result theoretically from blood transfusions. It is calculated from the number of packed red blood cell units,  $N_{\text{pRCB}}$ , each carrying

**TABLE 1** Characteristics of patient cohort at the time of SCT and overview of different diseases

Patient's characteristics at SCT	Mean value (Min.-Max. value)
Age (y)	10.7 (0.5-19.9)
Weight (kg)	32.1 (6.3-66.0)
Height (cm)	135 (63-188)
BMI in (kg/m <sup>2</sup> )	17.5 (14.3-22.8)
<b>Diagnosis</b>	
ALL	9/23
AML	6/23
MDS	3/23
Others <sup>a</sup>	5/23
<b>Complications after transplantation</b>	
Relapse during follow-up	5/23
VOD	2/23
GvHD	7/23

<sup>a</sup>Others: EWS, HLH, neuroblastoma, JMML, Purtilo syndrome.

about 200 mg of ferrous ions, and the BW at the time of the measurement (see Equation 2). Small patients weighing <25 kg did not receive an entire unit of red blood cells at once, but between 10 and 20 mL per kg BW. The exact individual amount was taken into account for IL calculation.

$$IL \left[ \frac{\text{mg Fe}^{2+}}{\text{kg}} \right] = \frac{N_{\text{PRBC}} * 200 \text{ mg Fe}^{2+}}{\text{BW}[\text{kg}]} \quad (2)$$

## 2.4 | Statistical analysis

Statistical analyses were performed, and graphical artwork was created in IBM SPSS 25 and Microsoft Excel, respectively. MRI-based findings and SF levels were evaluated at the three different time points (before, 100 days, and 1 year after SCT). These descriptive analyses were complemented by Wilcoxon signed-rank tests to identify significant differences between grouped data ranks. The influence of CRP (>7.5 mg/L vs <7.5 mg/L) on MR-Fe or SF, adjusted for the time of measurement, was analyzed using GEEs to account for correlated data. A gamma distribution and a log link function were

assumed. The back-transformed effect estimate is presented as the ratio of means with 95% CI and Wald test-based P-value. This analysis was performed with SAS version 9.4. ROC analysis was used to compare the accuracy of SF and MR-Fe in diagnosing relevant iron overload (we applied a threshold of SF >1000 µg/L, with reference to Ong et al<sup>12</sup>). Spearman's  $\rho$  was used as a measure of their correlation.

The continuous follow-up of blood sample parameters (SF, CRP) and the number of transfusions were analyzed graphically in longitudinal plots for each patient. One typical example case is discussed below.

## 3 | RESULTS

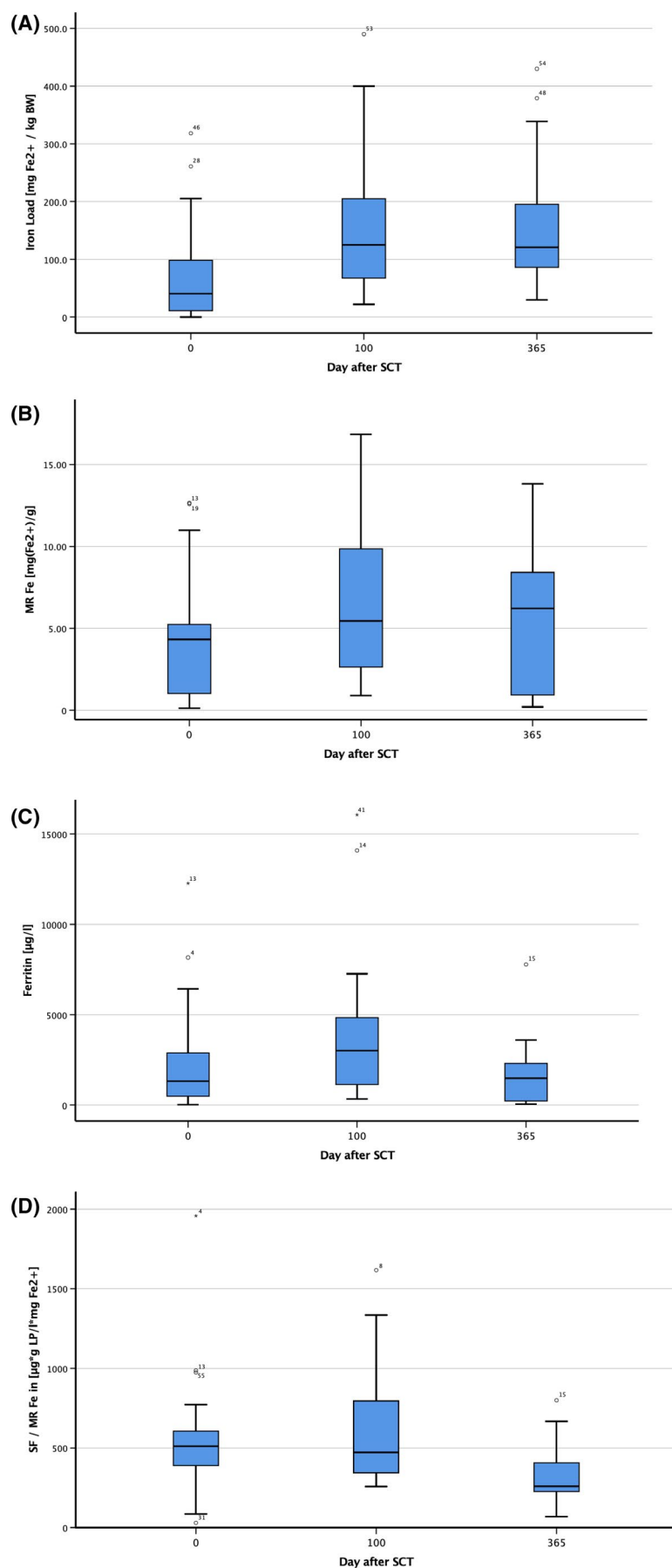
MRI was successfully performed in all 23 patients at the three time points. Patient data are summarized in Table 1. The majority suffered from leukemia, while only a few had other oncological diseases, including EWS or neuroblastoma. The most relevant complications were mainly GvHD or relapses occurring during follow-up (see Table 1). Table 2 contains the mean values of the recorded data.  $T_2^*$  values ranged between 1.53 and 35.4 ms, and were used to estimate MR-Fe (see above) for subsequent analyses.

We compared IL, MR-Fe, SF, and the ratio between SF and MR-Fe at the three different time points by using box plots (see Figure 1A-D and Table 2). As indicated by the mean values in Table 2, the highest transfusion requirement occurred between SCT (day 0) and day 100 to compensate for the loss of bone marrow function immediately after transplantation; the corresponding IL was strongly increased at day 100 compared with day 0, reflecting cumulative iron intake. Since only few transfusions were administered thereafter, IL remained rather constant (see Table 2 and Figure 1A). Both MR-Fe and SF values decreased at day 365 compared with day 100 (Table 2), suggesting iron elimination with lower LIC after 1 year post-SCT compared with day 100. Repetitive blood sampling, growth, and gastrointestinal loss may be an explanation for this slight trend toward normalization. Menstrual bleeding may also lower iron levels. However, in contrast we found that MR-Fe was even higher for these girls (age >12 years) than for male patients of the same age group in our study population (N = 5 male and N = 4 female patients; mean values of MR-Fe [female]: 9.48 mg Fe<sup>2+</sup>/g and MR-Fe [male]: 6.64 mg Fe<sup>2+</sup>/g). SF values were lower for the female patients (1835 µg/L vs 1967 µg/L). These

**TABLE 2** Overview of collected data at the three defined time points of measurement

Parameters	Before SCT	Day 100 after SCT	Day 365 after SCT
Average of total number of transfused packed red cells (Min.-Max. value)	11.35 (0-35)	21.87 (2-49)	24.26 (4-55)
Mean IL (Min.-Max. value) in (mg/kg)	77.5 (0.0-318.2)	156.8 (22.0-490.0)	161.4 (29.6-430.0)
Mean MR-Fe (Min.-Max. value) in (mg Fe <sup>2+</sup> /g)	4.46 (0.12-12.66)	6.39 (0.89-16.84)	5.60 (0.20-13.82)
Mean SF (Min.-Max. value) in (µg/L)	2521 (14-12 268)	3986 (335-16 060)	1622 (46-7780)
Mean CRP (Min.-Max. value) in (mg/L)	19.4 (2.0-227.0)	4.2 (2.0-27.6)	6.3 (2.0-55.3)

Note: N = 23 patients.



**FIGURE 1** (A-D) Non-parametric boxplots of different parameters at the three defined time points before and after SCT. (A) Iron load (IL) in (mg Fe<sup>2+</sup>/kg); (B) MR-Fe values in (mg Fe<sup>2+</sup>/g); (C) SF values in (μg/L); (D) SF/MR-Fe ratios in (μg/L)/(mg Fe<sup>2+</sup>/g); N = 23. Boxplots include the 1st and 3rd quartile as borders of the boxes as well as the median value (thick bar in boxes); the whiskers comprise 1.5 times the interquartile range. Outliers are indicated by circles. IL was increased at day 100 compared with day 0 and stayed stable as only few transfusions were administered between day 100 and day 365 (A); SF values are decreased on day 365 (C)



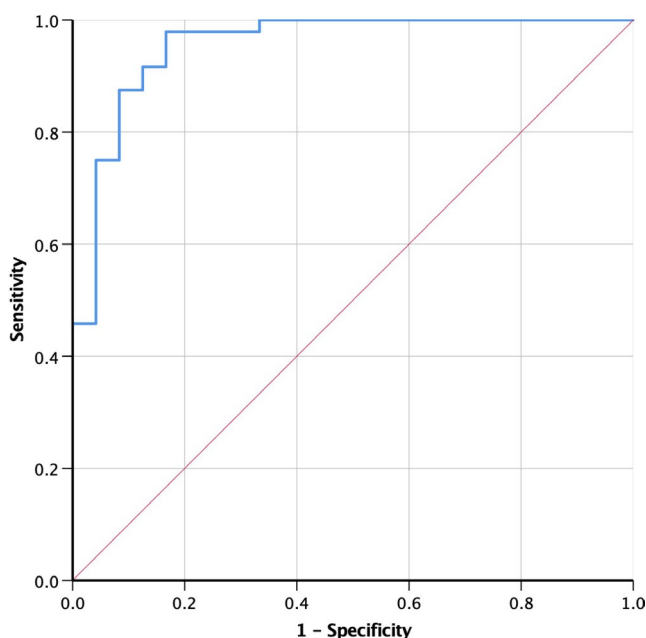
observations may be confounded by the different IL. The female group received 30.75 transfusions on average and the male control group only 24.6. Only two patients did not receive any transfusions prior to the transplantation. Due to the small number, no statistical conclusions were drawn in this group as regards effects of iron preload to the later response, that is, effects of transfusions on SF or MR-Fe after SCT.

ROC analysis including all patients revealed high accuracy between MR-Fe and SF (see Figure 2), as the AUC was nearly 1, when applying a limit of SF >1000 µg/L<sup>12</sup> for iron overload diagnosis.

We did not find a significant influence ( $P = .39$ ) of increased CRP (>7.5 mg/L) on MR-Fe, adjusted for the significant differences between the points of measurement ( $P = .02$ ) in GEE. The highest mean values of SF and MR-Fe were observed on day 100 after SCT and the lowest before SCT. The mean value of the SF/MR-Fe ratio was significantly ( $P = .001$ ) higher at day 0 compared with 100 days and 1 year later (see Table 1). The observed reduced SF/MR-Fe ratio correlated significantly with lower mean CRP values 100 days after SCT compared with the initial values ( $P = .03$ ; see Table 2 for mean values).

A high, non-parametric correlation was observed between SF and MR-Fe including all 23 patients ( $r_s = .84$ ;  $P < .001$ ). This correlation was decreased after SCT ( $r = .67$ ;  $P < .001$ ) during the period of high immune responses (up to day 100) and was increased again at day 365 ( $r_s = .78$ ;  $P < .001$ ).

All available SF and CRP values were compared longitudinally for each patient individually to evaluate immune responses to SCT in more detail than at just the three time points described above. One typical plot for an 18-year-old female patient, additionally including



**FIGURE 2** ROC analysis of MR-Fe and ferritin (SF), with a threshold for iron overload at SF >1000 µg/L, shows high accuracy between both methods (blue line) by an area under the curve (AUC) = 0.96 (95%-CI: 0.90-1.00); N = 23 patients; red diagonal shows a reference AUC = 0.5

the further available MR-Fe values and the number of transfusions, is exemplarily shown in Figure 3. This patient was transplanted twice due to a relapse after 50 months, causing a typical response each time: Directly after SCT (10-14 days), CRP levels increased to the highest registered peaks, followed by high rises of SF. Both peaks decreased after some weeks; CRP normalized quickly, whereas SF values remained elevated. The immune responses (increased CRP levels) were highest within the first 30 days after transplantation. The highest number of transfusions was also administered during the aplasia period immediately after SCT and rising MR-Fe values followed, indicating high iron uptake.

Both MR-Fe and SF values slightly decreased later (notably after first SCT) as there was no need of numerous transfusions. Unfortunately, there were no additional MRI examinations after the second SCT, preventing an interpretation of the MR values' trend beyond that time point.

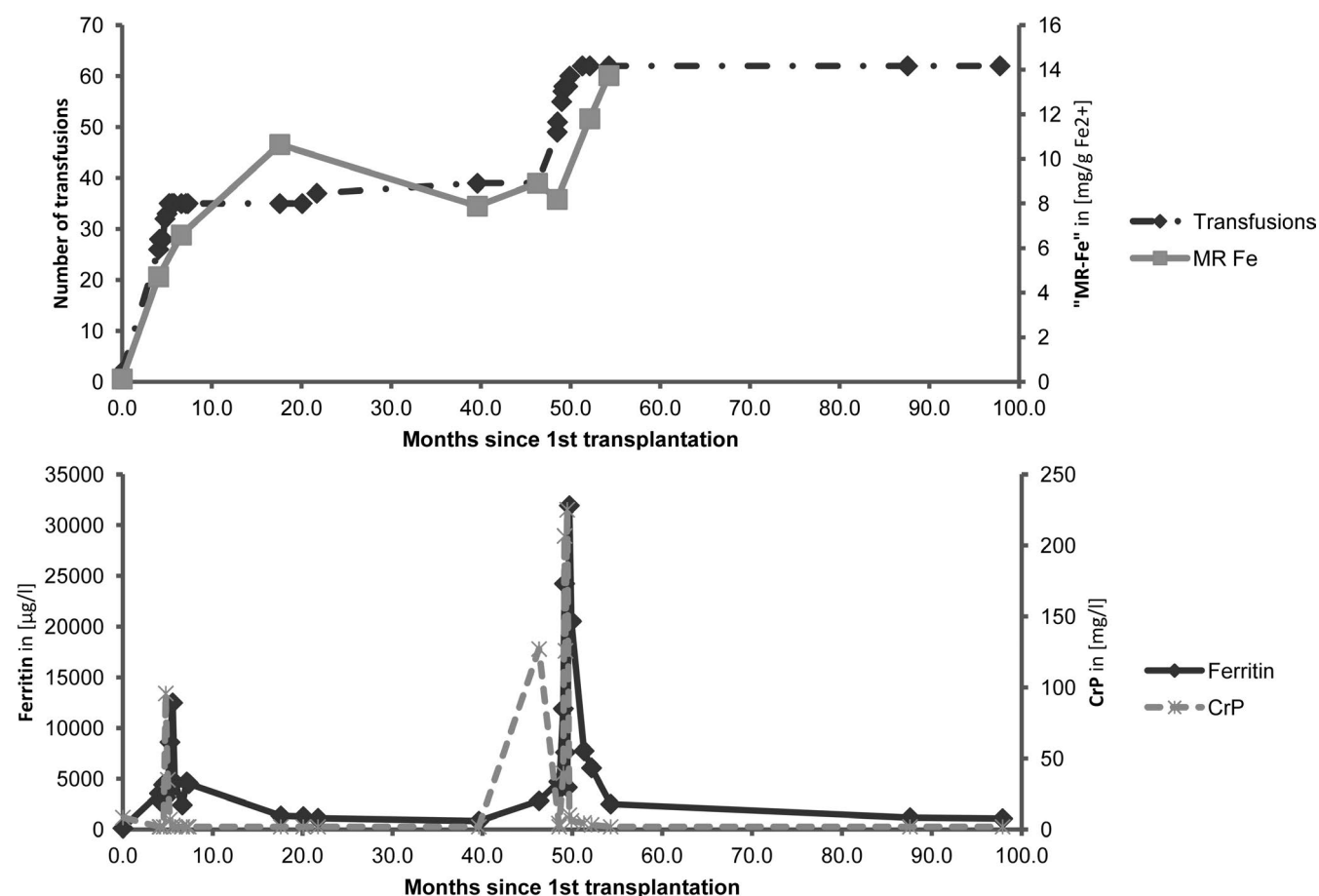
## 4 | DISCUSSION

Iron storage in LP appears to be partly reversible, as LIC by MR-Fe and SF mean values decreased 1 year after SCT (Table 2). Both values were lower 1 year after SCT than at day 100, although chelate therapy was not administered in all patients. The individual follow-up plots (Figure 3) are showing no association of CRP peaks and rising MR-Fe. Further, the GEE analysis proves that there is no significant association of MR-Fe with elevated CRP for every time point. So, inflammation is not explaining these observations. The probable causes are iron loss or regeneration of LP and the well-described downregulation of iron transporting proteins.<sup>5,18,19</sup> Restitution of LP or a potentially reversible process of iron overload has been recently discussed and may play a role.<sup>20</sup> But, a complete recovery was not observed in any patient within the study period. In patients with thalassemia, cellular iron uptake is downregulated through hepcidin after many transfusions.<sup>21,22</sup> A reduced dietary iron uptake and the physiological iron loss (eg, by exfoliation of intestinal mucosa cells) might therefore still compensate the increasing iron stores, as we are evaluating the iron levels from the start of the transfusion therapy. This might explain these findings as well as the increased iron utilization during growth in children and adolescents. The higher daily needs lead to increased mobilization of iron stores, decreasing them gradually.<sup>5</sup>

Angelucci et al<sup>23</sup> estimated the resulting liver iron concentration ("estimated)LIC," eLIC) related to the incorporated iron (IL), where LP stands for LP (Equation 3).

$$eLIC = \frac{IL}{10.6} \ln [mg Fe^{2+} / g \text{ of dry LP}]. \quad (3)$$

According to different studies, eLIC >7 mg Fe<sup>2+</sup>/g is considered as highly elevated.<sup>5,18,23</sup> Thus, 17 of 23 patients in our study revealed iron overload at least at one measurement during follow-up and the IL mean was consequently above this threshold at all 3 time points (see Table 3, center row). Estimated iron levels from MR relaxometry



**FIGURE 3** Exemplary follow-up evaluation for one patient who was transplanted twice (at 0 and 50 mo): Two peaks of CRP (light broken line) and ferritin (bold dark line) can be observed directly after both transplantations in the lower chart; the peaks are not corresponding to the number of transfusions (dark gray rhomboids and pointed line in the upper chart). MR relaxometry ("MR-Fe," estimated by Wood et al<sup>11</sup>; light bold line in the upper chart) increased related to many transfusions after the transplantations, but decreased in the interim

("MR-Fe," Table 3, bottom row) by Wood<sup>11</sup> were much smaller than the estimated eLIC calculated from the number of administered transfusions by following Angelucci et al.<sup>23</sup> A direct correlation between the administered amount of iron and eLIC was not possible, as the incorporation and the distribution were not identical between the different patients and not even between their organs as well.<sup>3,4</sup> The BW further influences the reliability of IL, as it might either increase (growth) or decrease (resulting from disease or treatment) during the surveillance period. Our observation nevertheless

**TABLE 3** Mean values of the IL, estimated liver iron concentration (eLIC) from total number of transfusion (2nd line, by Angelucci et al—see Equation 3), and MR-Fe (bottom row,  $T_2^*$  conversion by Wood et al, Equation 1)

Day after SCT	0	100	365
IL	77.5 mg Fe <sup>2+</sup> /kg (BW)	156.8 mg Fe <sup>2+</sup> /kg (BW)	161.4 mg Fe <sup>2+</sup> /kg (BW)
eLIC by Angelucci et al	7.48 mg Fe <sup>2+</sup> /g	14.79 mg Fe <sup>2+</sup> /g	15.23 mg Fe <sup>2+</sup> /g
MR-Fe by Wood et al	4.46 mg Fe <sup>2+</sup> /g	6.39 mg Fe <sup>2+</sup> /g	5.60 mg Fe <sup>2+</sup> /g

shows that there are substantial amounts of iron incorporated even within 1 year after SCT. Interventions like chelate therapy may be initiated to protect the patients from late complications (ie, cardiac dysfunction or endocrinopathies, which may lead to growth disturbances or incomplete puberty).<sup>5,24,25</sup> Although it is not a standard for pediatric patients after SCT lately, but as most of our patients (17/23) revealed iron overload according to Angelucci et al<sup>23</sup> (eLIC >7 mg/g Fe<sup>2+</sup>), it is worth considering the indication for chelate therapy individually. However, an initiation must be carefully considered, taking into account the long-term administration and the chelate's side effects,<sup>24,25</sup> and simple SF determination does not seem to be accurate enough.

Our study clearly shows that immune responses are influencing SF values whereas MR-Fe values are not affected to that extent. The individual follow-up evaluation plots of CRP and SF revealed simultaneous peaks of both markers during the period of SCT. Increases in SF attributed to iron intake would not be expected to normalize so quickly because iron overload is understood as an irreversible process.<sup>18,23</sup> Transient immune responses, leading to macrophage activation, are more likely to cause these spikes.<sup>2,13,26</sup> GVHD was observed in seven patients with three of

them showing very high SF levels (7000 µg/L up to 14 000 µg/L) and a severe course of GvHD SF was lower in the remaining four patients, revealing lighter courses of GvHD (about the dimension of values from other patients without GvHD). SF levels were measured nearly continuously to be >1000 µg/L when associated with increased CRP SF measurements during these short periods therefore seem not to be very reliable for assessing LIC, which is in agreement with other publications.<sup>2,4,12,26-28</sup>

MR-Fe values, on the other hand, did not show these peaks associated with CRP, and there was no significant influence of CRP on the three fixed time points. Further, the SF/MR-Fe ratio was decreased during follow-up toward day 365 (see Figure 1D) as were the mean CRP values. As MR-Fe is supposed to reflect LIC correctly,<sup>10,11</sup> we attribute these observations to inflammatory reactions. The CRP-related SF peaks in the longitudinal plots support this inference. Lower CRP hence implies more correct estimation of iron levels by SF. Its threshold for iron overload should therefore not be fixed on normal values for this patient population as they are probably less specific and frequently exceeded during inflammation. Defining a specific limit is difficult due to the great data variability. However, the clinically applied limit of SF >1000 µg/L for chronically transfused patients is recommended: The ROC analysis showed high accuracy between SF and MRI of iron overload diagnosis, because the higher threshold of SF >1000 µg/L increased the specificity of SF. Taking elevated CRP values into account increases SF's significance and helps to avoid false-positive decisions during inflammation. Proving the diagnosis of iron overload by comparing MR-Fe from routine MRI with earlier measurements is also an option: The estimation of MR-Fe from T2\* is an alternative, especially for patients with ongoing inflammation. When MRIs are scheduled during the course of leukemia and follow-up, T2\*-weighted sequences should be included in the standard protocol. Nevertheless, SF remains the method of choice for estimating iron overload qualitatively in routine screening: It is the more economic method, as well as faster and easier to apply.

In the light of these remarks, chelate therapy may still be initiated based on SF also in children after SCT. However, we would recommend a high limit (ie, >1000 µg/L) and additional determination of CRP levels; relying on SF determination within 100 days after SCT is not advisable. Ideally, the indication should be proved by MR relaxometry.

One relevant limitation of our study is that no liver biopsies were performed to confirm LIC histologically. MRI examinations were less frequent than SF determination and not scheduled within 1 month after SCT during preventive isolation of the patients after SCT.

Patients receiving autologous SCT were not included in this study, because the related immune reactions were not expected to be comparable. The study population was homogeneous regarding the myeloablative conditioning, but varies concerning the following immune responses. We assumed that differences between the immune responses and the intensity of complications might also be reflected by different SF levels after SCT. Nevertheless, these effects were independent from MR-Fe at all.

## 5 | CONCLUSION

The iron intake from transfusions after SCT leads to high liver IL, suggesting chelate therapy to be reasonable even for these pediatric patients. Whereas SF is useful for iron estimation during stable disease, it shows reduced significance during periods of inflammation, as seen after SCT. MRI provides comparable results in iron overload diagnosis; moreover, it is not affected by inflammation.

## ACKNOWLEDGMENTS

This study was partly subsidized by Novartis AG, Nuremberg, Germany.

## CONFLICT OF INTEREST

The authors report no conflicts of interests.

## AUTHOR CONTRIBUTIONS

KK and H-JM conceived of the presented idea. K-HH developed the theory in collaboration with JRR, and IK. IK performed the MRI measurements. GW performed the analysis, drafted the manuscript, and designed the figures. KK encouraged GW to investigate the specific effects of inflammation on iron levels and supervised the findings of this work together with H-JM K-HH, JRR, and JFB further aided in writing the manuscript. All authors discussed the results and contributed to the final manuscript.


## ETHICAL APPROVAL

The authors assert that all procedures contributing to this work are in accordance with the ethical standards of the institution and with the principles of the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments; a local ethical approval (No. 4130-07/14) was granted. No further registration was realized, as this prospective study was designed only as a local imaging study without therapeutic intervention.

## ORCID

Georg W. Wurschi  <https://orcid.org/0000-0002-8751-9862>

Hans-Joachim Mentzel  <https://orcid.org/0000-0002-0199-3257>

Juergen R. Reichenbach  <https://orcid.org/0000-0002-2640-0630>

Karim Kentouche  <https://orcid.org/0000-0001-9865-2629>

## ENDNOTE

\*Neonates: 80-628 µg/L; female adolescents and adults 10-291 µg/L; male adolescents and adults: 22-322 µg/L.

## REFERENCES

- Milic S, Mikolasevic I, Orlic L, et al. The role of iron and iron overload in chronic liver disease. *Med Sci Monit.* 2016;22:2144-2151.
- Knovich MA, Storey JA, Coffman LG, Torti SV, Torti FM. Ferritin for the clinician. *Blood Rev.* 2009;23(3):95-104.
- Porter JB, Witte TD, Cappellini MD, Gattermann N. New insights into transfusion-related iron toxicity: Implications for the oncologist. *Crit Rev Oncol/Hematol.* 2016;99:261-271.
- Kolnagou A, Yazman D, Economides C, Eracleous E, Kontoghiorghe GJ. Uses and limitations of serum ferritin, magnetic resonance imaging T2 and T2\* in the diagnosis of iron overload and in the ferrit kinetics of normalization of the iron stores in thalassemia using the International Committee on Chelation Deferiprone/Deferoxamine Combination Protocol. *Hemoglobin.* 2009;33(5):312-322.
- Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T, Torimoto Y, Kato J. Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *Int J Hematol.* 2008;88(1):7-15.
- Argyropoulou MI, Kiortsis DN, Astrakas L, Metafratzi Z, Chalissos N, Efremidis SC. Liver, bone marrow, pancreas and pituitary gland iron overload in young and adult thalassemic patients: a T2 relaxometry study. *Eur Radiol.* 2007;17(12):3025-3030.
- Sheth S. SQUID biosusceptometry in the measurement of hepatic iron. *Pediatr Radiol.* 2003;33(6):373-377.
- Runge JH, Akkerman EM, Troelstra MA, Nederveen AJ, Beuers U, Stoker J. Comparison of clinical MRI liver iron content measurements using signal intensity ratios, R(2) and R(2)\*. *Abdominal Radiol.* 2016;41(11):2123-2131.
- Henninger B, Kremser C, Rauch S, et al. Evaluation of MR imaging with T1 and T2\* mapping for the determination of hepatic iron overload. *Eur Radiol.* 2012;22(11):2478-2486.
- Paisant A, d'Assignies G, Bannier E, Bardou-Jacquet E, Gandon Y. MRI for the measurement of liver iron content, and for the diagnosis and follow-up of iron overload disorders. *Presse Med.* 2017;46(12 Pt 2):e279-e287.
- Wood JC, Enriquez C, Ghugre N, et al. MRI R2 and R2\* mapping accurately estimates hepatic iron concentration in transfusion-dependent thalassemia and sickle cell disease patients. *Blood.* 2005;4(106):1460-1465.
- Ong S, Nicoll AJ, Delatycki MB. How should hyperferritinaemia be investigated and managed? *Eur J Intern Med.* 2016;33:21-27.
- Otrock ZK, Daver N, Kantarjian HM, Eby CS. Diagnostic challenges of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2017;17:105-110.
- Quinn CT, Pierre T. MRI measurements of iron load in transfusion-dependent patients: implementation, challenges, and pitfalls. *Pediatr Blood Cancer.* 2016;63:773-780.
- Serai SD, Fleck RJ, Quinn CT, Zhang B, Podberesky DJ. Retrospective comparison of gradient recalled echo R2\* and spin-echo R2 magnetic resonance analysis methods for estimating liver iron content in children and adolescents. *Pediatr Radiol.* 2015;45(11):1629-1634.
- Kornreich L, Horev G, Yaniv I, Stein J, Grunebaum M, Zaizov R. Iron overload following bone marrow transplantation in children: MR findings. *Pediatr Radiol.* 1997;27(11):869-872.
- Gandon Y, Olivie D, Guyader D, et al. Non-invasive assessment of hepatic iron stores by MRI. *Lancet.* 2004;363(9406):357-362.
- Alústiza JM, Castiella A, Juan M, Emparanza JI, Artetxe J, Uranga M. Iron overload in the liver diagnostic and quantification. *Eur J Radiol.* 2007;61(3):499-506.
- Brittenham GM, Badman DG. Noninvasive measurement of iron: report of an NIDDK workshop. *Blood.* 2003;101(1):15-19.
- Jung YK, Yim HJ. Reversal of liver cirrhosis: current evidence and expectations. *Korean J Int Med.* 2017;32(2):213-228.
- Ganz T, Nemeth E. Iron imports. IV. Hepcidin and regulation of body iron metabolism. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2006;290(2):G199-G203.
- Ganz T, Jung G, Naeim A, et al. Immunoassay for human serum erythroferrone. *Blood.* 2017;130(10):1243-1246.
- Angelucci E, Brittenham GM, McLaren CE, et al. Hepatic iron concentration and total body iron stores in thalassemia major. *N Engl J Med.* 2000;343(5):327-331.
- Leitch HA, Vickars LM. Supportive care and chelation therapy in MDS: are we saving lives or just lowering iron? *Hematology.* 2009;664-672.
- Coates TD, Wood JC. How we manage iron overload in sickle cell patients. *Br J Haematol.* 2017;177(5):703-716.
- Sreedharan A, Bowyer S, Wallace CA, et al. Macrophage activation syndrome and other systemic inflammatory conditions after BMT. *Bone Marrow Transplant.* 2006;37(7):629-634.
- Schaffner M, Rosenstein L, Ballas Z, Suneja M. Significance of hyperferritinemia in hospitalized adults. *Am J Med Sci.* 2017;354(2):152-158.
- Ruscitti P, Cipriani P, Di Benedetto P, et al. H-ferritin and pro-inflammatory cytokines are increased in the bone marrow of patients affected by macrophage activation syndrome. *Clin Exp Immunol.* 2017;2:220-228.

**How to cite this article:** Wurschi GW, Mentzel H-J, Herrmann K-H, et al. MRI as an alternative to serum ferritin for diagnosis of iron overload in children in the context of immune response after stem cell transplantation. *Pediatr Transplant.* 2019;00:e13583. <https://doi.org/10.1111/petr.13583>

## C Abstracts von Kongressbeiträgen

Auf den nachfolgenden Seiten sind die Abstracts zu Kongressbeiträgen zu finden:

<b>Datum</b>	<b>Veranstaltung / Ort</b>	<b>Titel</b>
02.03.2017	ECR <sup>1</sup> , Wien	<i>Evaluation of ultrasound elastography and MR-susceptometry for the estimation of iron overload in children after blood cell transfusion</i>
27.05.2017	RöKo <sup>2</sup> , Leipzig	<i>Vergleich nicht-invasiver Methoden zur Verlaufsbeurteilung der Eisenbeladung der Leber bei transfusionspflichtigen Kindern und Jugendlichen</i>
23.09.2017	Jahrestagung DGKJ / GPR <sup>3</sup> , Köln	<i>Vergleich nicht-invasiver Methoden zur Verlaufsbeurteilung der Eisenbeladung der Leber bei transfusionspflichtigen Kindern und Jugendlichen</i>

---

<sup>1</sup>European Congress of Radiology

<sup>2</sup>Deutscher Röntgenkongress

<sup>3</sup>Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin sowie der Gesellschaft für Pädiatrische Radiologie

# #1739: Evaluation of ultrasound elastography and MR-susceptometry for the estimation of iron overload in children after blood cell transfusion

## Authors

G. Wurschi, I. Krumbein, K.-H. Herrmann, K. Kentouche, H.-J. Mentzel, Jena/DE

## Type

Oral Presentation (Students abstract submission)

## Topic

My scientific paper in the field of gastroenterology

## Body

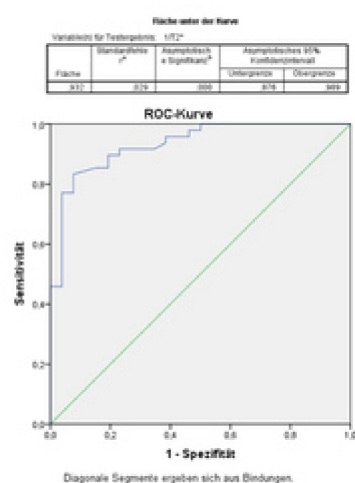
### Purpose

Patients receiving repeated blood cell transfusion are vulnerable to iron overload (IO) in different tissues, as liver parenchyma. Thus children suffering from IO chronically need to be screened easily to discover and counteract secondary injury early.

**Methods and Materials:** 43 stem-cell transplantated children (mean age  $11.5y \pm 6.2y$  SD), which had received several blood transfusions, were examined before and after transplantation by ARFI imaging (iU22, Philips) and T2\*-relaxation time MR-susceptometry (1.5 T, Avanto, Siemens), compared to established blood parameters of liver function (LF) and iron haemostasis.

**Results:** T2\*-relaxation-time correlates significantly to serum-Ferritin ( $r=.61$ ,  $p=.01$ ,  $N=74$ ). Due to influence by acute-phases-reaction, the cut-off for hyperferritinemia was chosen at  $>1000\mu g/l$ . There, ROC analysis to T2\* showed a strong evidence ( $AUC=.932$ ,  $r^2=.029$ ,  $N=74$ ). Excluding Ferritin values influenced by inflammatory processes (with  $CRP >7.5mg/dl$ ) increased correlation for T2\*  $1.34x$  ( $p=.01$ ,  $N=63$ ). A qualitative score was calculated from established serum values of LF, showing  $1.79x$  higher mean-ferritin with increased score. Similar results for ARFI data ( $1.4x$  higher) and inversed T2\*-values ( $1.26x$ ) were found. There was no significant correlation between ARFI and ferritin or MR-susceptometry.

**Conclusion:** As T2\* correlates well with ferritin, screening might become non-invasive based on this method later. Despite increased liver stiffness was attended by serum values indicating an impaired LF, no direct attribution to iron overload is possible. Effects associated to fibrosis secondary related to IO could be possible. So, elastography may be helpful in discovering secondary damage earlier.



ROC analysis of Ferritin  $>1000\mu g/l$  to  $1/T2^*$  ( $N=74$ )

# Vergleich nicht-invasiver Methoden zur Verlaufsbeurteilung der Eisenbeladung der Leber bei transfusionspflichtigen Kindern und Jugendlichen

**Präsentationsart** Vortrag (Wissenschaft)

**Haupt-Thema** Kinderradiologie

weitere Themen

Gastro- und Abdominaldiagnostik  
Onkologische Bildgebung / Onkologie  
Ultraschall

Modalitäten

MRT  
Ultraschall / Sonographie

Zielsetzung

Nach vermehrten Bluttransfusionen können Organe durch eine chronische Eisenüberladung (IO) beeinträchtigt werden, bspw. Fibrosierung im Lebergewebe. Gerade junge Patienten sollten diesbezüglich einfach überwacht werden können, um Sekundärschäden frühzeitig erkennen und behandeln zu können.

Material und Methodik

Es wurden 43 Patienten (MW 11,5J  $\pm$  6,2J SD) vor sowie nach (100T, 365T) erhaltener Stammzelltransplantation mittels Ultraschall-Elastografie (UE) (iU22, Philipps, C5-1MHz) und anhand der T2\*-MR-Relaxationszeit (1,5T, Avanto, Siemens) mit etablierten Serumparametern zur Leberfunktion (LF) und Eisenstoffwechsel, wie Serum-Ferritin, verglichen. In der weiteren Beurteilung wurde der cut-off für Hyperferritinämien bei 1mg/l festgesetzt, um Einflüsse von Akute-Phase-Reaktionen zu minimieren.

Ergebnisse

Eine signifikante Korrelation zwischen T2\* und Serum-Ferritin ließ sich feststellen ( $r=.61$ ,  $p=.001$ ,  $N=74$ ), wobei die Varianz der Messungen im MRT deutlich geringer ausfiel. Beide Methoden wiesen eine vergleichbare Spezifität in ROC-Analysen auf ( $AUC=.932$ ,  $r^2=.029$ ,  $N=74$ ). Ein Ausschluss von Patientendaten bei einem CRP  $>7,5\text{mg/dl}$  erhöhte die Korrelation zu T2\* um das 1,34-fache ( $p=.001$ ,  $N=63$ ).

Zur Beurteilung der LF wurde aus etablierten Serum-Parametern ein qualitativer Score ermittelt. Demnach erhöhte Parameter gingen im Mittel mit 1,79-fach erhöhten Ferritin-Werten sowie 1,4-fach erhöhten UE-Parametern bzw. 1,26-fach erhöhtem R2\* ( $=1/T2^*$ ) einher.

Schlußfolgerungen

Da T2\* gut mit Ferritin-Werten korrelierte, ist eine zukünftige MR-gestützte Überwachung denkbar. Obwohl eine erhöhte Steifheit der Leber in der UE zwar mit erhöhten Serum-Parametern einherging, ließ sich dies nicht primär einer IO zuordnen. Im Vergleich ist dieses Verfahren zwar durchaus sensitiv für eine Fibrosierung, jedoch unspezifisch hinsichtlich der Ursache, wie möglicher IO. Eine Kontrolle per UE könnte daher nur helfen, Folgeschäden früh zu erkennen.

Co-Autoren

1. Karim Dr. med. Kentouche, Jena  
Klinik für Kinder- und Jugendmedizin; Universitätsklinikum Jena, Abt. f. Hämostaseologie & Immunologie
2. Ines Krumbein, Jena  
Institut für Diagnostische und Interventionelle Radiologie, Universitätsklinikum Jena,
3. Karl-Heinz Dr. Herrmann, Jena

Institut für Diagnostische und Interventionelle Radiologie, Universitätsklinikum Jena, AG Medizinische Physik

4. Hans-Joachim Prof. Dr. Mentzel, Jena

Institut für Diagnostische und Interventionelle Radiologie, Universitätsklinikum Jena, Abt. f. Kinderradiologie



## GPR-FV111

**Vergleich nicht-invasiver Methoden zur Verlaufsbeurteilung der Eisenbeladung der Leber bei transfusionspflichtigen Kindern und Jugendlichen**

Georg Wurschi<sup>1</sup>, Ines Krumbein<sup>1</sup>, Karim Kentouche<sup>2</sup>, Karl-Heinz Herrmann<sup>1</sup>, Hans-Joachim Mentzel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universitätsklinikum Jena, Jena, Deutschland, <sup>2</sup>Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Jena, Jena, Deutschland

**Hintergrund und Fragestellung:** Nach vermehrten Bluttransfusionen können Organe durch eine chronische Eisenüberladung (IO) beeinträchtigt werden, bspw. Fibrosierung im Lebergewebe. Insbesondere junge Patienten sollten diesbezüglich einfach überwacht werden können, um Folgeschäden frühzeitig erkennen und behandeln zu können.

**Material und Methoden:** 43 Patienten (MW 11,5J  $\pm$  6,1J SD) wurden vor sowie nach (100T, 365T) Stammzelltransplantation mit Ultraschall Scherwellen-Elastografie (SWE) (iU22, Philips, C5-1 MHz) und T2\*-MR-Relaxationszeit-Messung (1,5T, Avanto, Siemens) untersucht und mit Serumparametern zu Leberfunktion (LF) und Eisenstoffwechsel (Serum-Ferritin – SF), verglichen. In der weiteren Analyse wurde ein cut-off für Eisenüberladung bei SF > 1 mg/l festgesetzt, um Einflüsse von Akute-Phase-Reaktionen zu minimieren.

**Ergebnisse:** Die Ergebnisse der SWE zeigten keine signifikante Korrelation zu T2\* oder SF. Zwischen T2\* und log(SF) bestand hohe signifikante Korrelation ( $r = -.81$ ;  $p < .001$ ;  $N = 79$ ); die Varianz der T2\*-Messungen fiel deutlich geringer aus. Beide Methoden zeigten eine vergleichbare Spezifität in ROC-Analysen (AUC = .937; SE = .027;  $N = 79$ ). Bezogen auf den Cut-off weisen T2\* < 5,59 ms auf eine IO mit SF > 1 mg/l hin, was die Indikation zur Chelator-Therapie darstellt.

Der Ausschluss von SF-Werte bei CRP > 7,5 mg/dl zur Vermeidung beeinflussender Akute-Phase-Reaktionen (APR) erhöhte die Korrelation zu T2\* um das 1,33-fache ( $p < .001$ ;  $N = 63$ ).

Zur Beurteilung der LF wurde aus etablierten Serum-Parametern ein qualitativer Score entwickelt. Demnach verminderte LF ging im Mittel mit 2-fach erhöhten SF-Werten sowie 1,4-fach erhöhten SWE-Parametern bzw. 1,3-fach erhöhtem R2\* ( $= 1/T2^*$ ) einher.

**Diskussion:** Die Bestimmung der Eisenbeladung der Leber (HIC) über SF erfolgt indirekt, weitere Einflussfaktoren, wie durch APR, sind auszuschließen. Statistische Analysen ergaben insgesamt eine gute Übereinstimmung, sodass die HIC per T2\* bestimmt werden kann.

Ergebnisse der SWE sind abhängig von Untersucher und Compliance des Patienten. Insofern ist die Validität der Messung gerade bei kleinen Kindern (< 4 J.) limitiert. Obwohl eine erhöhte Steifheit der Leber in der SWE mit erhöhten Serum-Parametern einherging, ließ sich dies nicht primär einer IO zuordnen. Im Vergleich ist dieses Verfahren zwar sensitiv für eine Fibrosierung, jedoch unspezifisch hinsichtlich der Ursache. Für eine sichere Aussage beider Methoden, v. a. bei Verlaufskontrollen, ist die gleiche Platzierung der ROI in einem homogenen Areal von Lebergewebe entscheidend.

**Schlussfolgerung:** Werte von T2\* < 5,59 ms waren in der untersuchten Population verbunden mit einem IO. Da T2\* gut mit SF-Werten korrelierte, ist die MR-gestützte Bestimmung der HIC anzustreben und danach die Chelator-Therapie zu steuern. Die SWE eignet sich hingegen nur zur Früherkennung von Folgeschäden in der Leber (Fibrose).

## Wissenschaftliche Sitzung GPR – Freie Themen 2

## GPR-FV112

**ADC-Histogramm Analyse von Medulloblastomen kann tumorbiologische Eigenschaften wie Zelldichte und Proliferationsaktivität vorhersagen**

Anne Bettina Beeskow<sup>1</sup>, Stefan Schob<sup>1</sup>, Hans-Jonas Meyer<sup>1</sup>, Nikita Garnov<sup>2</sup>, Matthias Krause<sup>1</sup>, Clara Frydrychowicz<sup>1</sup>, Alexey Surov<sup>1</sup>, Franz Wolfgang Hirsch<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universitätsklinikum Leipzig, Leipzig, Deutschland, <sup>2</sup>Eichamt Leipzig, Leipzig, Deutschland

**Hintergrund:** Medulloblastome sind die häufigsten malignen Hirntumoren im Kleinkindes- und Kindesalter. Abhängig von Tumorhistologie und Tumorstadium differiert die Prognose erheblich. Mittels diffusionsgewichteter MR-Bildgebung können Mikroarchitektur und einige tumorbiologische Eigenschaften von malignen Tumoren reflektiert werden.

**Fragestellung:** Ziel der Studie war zu es zu untersuchen, ob histogrammbasierte Analysen von MRT-Diffusionskoeffizientenkarten (ADC-Maps) von Medulloblastomen Rückschlüsse auf deren Zellteilungsaktivität und Zelldichte zulassen.

**Material und Methoden:** 7 Patienten (Alter: Median 14,6 Jahre, Minimum 2 Jahre, Maximum 20 Jahre; 5 männlich, 2 weiblich) wurden in die retrospektive Analyse eingeschlossen. In den ADC-Maps wurde mithilfe eines neuentwickelten Matlab-basierten Bildanalysetools eine Histogrammanalyse durchgeführt. Die ermittelten Histogrammparameter wurden mit den histopathologischen Parametern korrelativ analysiert.

**Ergebnisse:** Die ADC-Entropie zeigte eine starke inverse Korrelation mit der Expression des Proliferationsmarkers Ki-67 ( $r = -0,888$ ,  $p = 0,044$ ) wie auch mit der gesamten Kernfläche ( $r = -0,962$ ,  $p = 0,009$ ).

**Diskussion:** Die Histogrammanalyse der untersuchten ADC-Maps konnte einen Zusammenhang zwischen tumorbiologische Eigenschaften von Medulloblastomen und der MR-Bildgebung aufzeigen. In unserer Studie zeigte sich ein stark ausgeprägter, indirekter Zusammenhang zwischen der Entropie der Tumoren in der ADC Karte und der Proliferationsneigung bzw. der Zelldichte in den korrespondierenden histopathologischen Präparaten.

In anderen Studien konnte bereits gezeigt werden, dass ADC-Histogrammparameter Metastasierung, Proliferationsrate und epitheliomesenchymale Transition verschiedener solider Tumoren vorhersagen können. Nun muss untersucht werden, wie die Ergebnisse unserer Studie mit Daten aus dem klinischen Kontext korrelieren.

**Schlussfolgerung:** Die ADC-Histogrammanalyse stellt damit ein vielversprechendes Werkzeug zur Beurteilung tumorbiologischer Eigenschaften dar. Weitere Studien sind notwendig, um den Nutzen der ADC-Histogrammanalyse für den klinischen Einsatz zu untersuchen.

## GPR-FV113

**Orbitalphlegmone im Kindesalter: Stellenwert der Ultraschalldiagnostik zur Diagnosesicherung und zum Monitoring – Erfahrungen der letzten 10 Jahre**

Yin Yu, Dirk Klee, Jörg Schaper

Universitätsklinikum Düsseldorf, Köln, Deutschland

**Hintergrund und Fragestellung:** Die Orbitalphlegmone ist eine ernstzunehmende Erkrankung, die einer adäquaten Diagnostik und Therapie bedarf. Zur Diagnostik und Verlaufsbeurteilung werden die Orbitasonographie (OS), die Computertomographie (CT) und die Magnetresonanztomographie (MRT) eingesetzt. Einige Autoren empfehlen die CT Untersuchung als erste bildgebende Maßnahme. Eine AWMF Leitlinie zur Bildgebung bei unklarer akuter Lidschwellung und zur Bildgebung im Verlauf bei Orbitalphlegmone existiert bisher nicht. Ziel dieser Studie war es, die Wertigkeit der OS als primär bildgebendes Verfahren zur Diagnosesicherung und zur Verlaufskontrolle bei klinischem Verdacht auf Orbitalphlegmone zu überprüfen.

# D Referenzwerte

## Angewendete Grenzwerte

Tabelle D.1 Aufgeführt sind die Referenzwerte aus verschiedenen Arbeiten, die zur Auswertung in der Arbeit herangezogen wurden. <sup>a)</sup> Grenze für die Diagnose einer relevanten Eisenüberladung (IO); <sup>b)</sup> Grenze des Normalbereiches; <sup>c)</sup> für Gewebsschäden kritische „Liver Iron Concentration“ (LIC); <sup>d)</sup> Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik, Universitätsklinikum Jena

Parameter	Normwert	(Referenz)
Serum Ferritin (SF) <sup>a)</sup>	< 1000 µg/l	(Kohgo et al. 2008, Knovich et al. 2009, Ong et al. 2016)
T2* <sup>b)</sup>	> 10 ms	(Henninger et al. 2012)
SWE <sup>b)</sup>	≤ 5,5 kPa	(Fiege et al. 2015)
eLIC <sup>c)</sup>	< 7 $\frac{\text{mgFe}^{2+}}{\text{g}}$	(Angelucci et al. 2000, Alústiza et al. 2007, Kohgo et al. 2008)
CrP <sup>b)</sup>	< 7,5 mg/l	IKCL / UKJ <sup>d)</sup>

Tabelle D.2 Aufgeführt sind neu berechnete Grenzwerte sowie deren Erläuterung im Text.

Parameter	Wert	Einführung
„HepScore“	≤ 5	S. 34
MR-Fe (entsprechende T2*-Zeit)	< 5,59 ms > 4,15 ms	S. 44

---

## „HepScore“-Berechnung

Die Berechnung des „HepScores“ erfolgte, wie auf S. 28 erläutert, anhand des in Tabelle D.3 dargestellten Schemas.

Tabelle D.3 Schema zur Berechnung des „HepScores“ anhand der altersabhängigen Normwerte aus der nachfolgend aufgeführten Tabelle D.4, S. XXIX

Parameter	Messwert innerhalb des Referenzbereiches	Messwert innerhalb des doppelten Referenzbereiches	Messwert außerhalb des doppelten Referenzbereiches
ALAT, ASAT, $\gamma$ -GT, AP, ChE, CrP	0 Punkte	1 Punkt	2 Punkte
Bilirubin	0 Punkte	2 Punkte	-
Summe	$\leq 14$ Punkte		
Unauffälliger „HepScore“		$\leq 5$ Punkte	
Erhöhter „HepScore“		$\geq 6$ Punkte	

## Normwerte der „HepScore“-Berechnung

Siehe Tabelle D.4 auf der folgenden Seite.

Tabelle D.4 Altersabhängige Normwerte der Serum-Parameter zur Berechnung des „HepScores“ basierend auf den Referenzwerten des Instituts für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik, Universitätsklinikum Jena (Stand: 2016)

Alter	0,5 - 4 Jahre		4 - 7 Jahre		7 - 10 Jahre		10 - 13 Jahre		13 - 19 Jahre		Erwachsene	
Geschlecht	männlich	weiblich	männlich	weiblich	männlich	weiblich	männlich	weiblich	männlich	weiblich	männlich	weiblich
<b>ALAT<sup>a</sup></b> in [μmol/l]	< 0,5	< 0,33	< 0,33	< 0,42	< 0,42	< 0,42	< 0,5	< 0,33	< 0,5	< 0,33	< 0,74	< 0,56
<b>ASAT<sup>b</sup></b> in [μmol/l]	< 0,83	< 0,83	< 0,75	< 0,75	< 0,76	< 0,76	< 0,68	< 0,68	< 0,58	< 0,58	< 0,58	< 0,52
<b>γGT<sup>c</sup></b> in [μmol/l]	< 0,65	< 0,65	< 0,37	< 0,37	< 0,37	< 0,37	< 0,37	< 0,37	< 0,70	< 0,40	< 0,92	< 0,63
<b>AP<sup>d</sup></b> in [μmol/l]	2,5 - 5,5	2,5 - 5,8	2,4 - 5,4	2,4 - 5,6	2,4 - 6,5	2,6 - 6,1	2,5 - 6,0	2,7 - 6,8	1,2 - 3,2	0,72 - 1,85	0,65 - 2,2	0,65 - 2,2
<b>ChE<sup>e</sup></b> in [μmol/l]	75 - 190	65 - 180	75 - 190	65 - 180	75 - 190	65 - 180	75 - 190	65 - 180	75 - 190	65 - 180	75 - 190	65 - 180
<b>Bilirubin</b> in [μmol/l]	< 17	< 17	< 17	< 17	< 17	< 17	< 17	< 17	< 17	< 17	< 21	< 21
<b>CrP<sup>f</sup></b> in [mg/l]	< 7,5	< 7,5	< 7,5	< 7,5	< 7,5	< 7,5	< 7,5	< 7,5	< 7,5	< 7,5	< 7,5	< 7,5

<sup>a</sup>Alanin-Aminotransferase

<sup>b</sup>Aspartat-Aminotransferase

<sup>c</sup>γ-Glutamyltransferase

<sup>d</sup>Alkalische Phosphatase

<sup>e</sup>Cholinesterase

<sup>f</sup>C-reaktives Protein

# E Klassifikationen

## E.1 „*METAVIR*“-Klassifikation

Dieser Score erlaubt eine histo-pathologische Klassifizierung des Fibrosegrades anhand des Ausmaßes der Umbauprozesse und war ursprünglich für die Einteilung der chronischen Hepatitis konzipiert (Bedossa und Poynard 1996). Mittlerweile zählt der *METAVIR* Score auch allgemein zu den am weitläufigsten verbreiteten Einteilungen der Fibrose (Barr et al. 2015). Die Unterteilung erfolgt in vier Schweregrade sowie ein initiales Stadium ohne fibrotische Veränderungen (F0). Der Endzustand ist die Leberzirrhose (F4).

Bei den *METAVIR*-Stadien F0 und F1 wird von einem geringen Risiko, eine klinisch signifikante Fibrose zu entwickeln, ausgegangen (Barr et al. 2015).

Tabelle E.1 Darstellung der „*METAVIR*“-Klassifikation sowie der zugehörigen, histologischen Korrelate nach *Bedossa und Poynard*.

Stadium	Histologisches Korrelat
F0	Keine fibrotischen Veränderungen.
F1	Portale, fibrotische Faservermehrung - ohne fibrotische Septen.
F2	Portale Fibrose mit vereinzelt, fibrotischen Septen.
F3	Portale Fibrose mit zahlreichen, fibrotischen Septen.
F4	Leberzirrhose (mit porto-portalen und porto-zentralen Bindegewebssepten sowie Regeneratknoten)

## E.2 Einteilung der GvHD nach *Glucksberg*

Nach *Glucksberg et al.* ist eine Einteilung des Schweregrades der Graft-versus-host-disease (GvHD) zur Abschätzung der Prognose möglich (Glucksberg et al. 1974). Die Berechnung erfolgt anhand der Schwere des Erscheinungsbildes an Haut, Leber und Darm. Der Schweregrad in den drei Organen wird nach den Tabellen E.3 - E.5 in vier Stadien beschrieben. Die nachfolgend vorgestellte Einteilung orientiert sich an der *1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading* (Przepiorka et al. 1995).

Die Tabellen E.3 - E.5 sind modifiziert nach *bloodref.com*<sup>1</sup>

Tabelle E.2 Einteilung des Schweregrades der GvHD nach *Glucksberg et al.* anhand der Stärke der Manifestation an Haut, Leber und Darm (Glucksberg et al. 1974). *Tabelle modifiziert nach <http://bloodref.com/transplant/gvhd/acute-gvhd-grade>; abgerufen: 2019-05-03*

Grad	Haut Stadium	Leber Stadium	Darm Stadium
0	0	0	0
1 (leicht)	≤ 2	0	0
2 (moderat)	≤ 3	≤ 1	≤ 1
3 (schwer)	≤ 3	≤ 4	≤ 3
4 (lebensbedrohlich)	≤ 4	≤ 4	≤ 4

Tabelle E.3 Einteilung des Schweregrades der GvHD an der Haut in vier Stadien. *KÖF - Körperoberfläche*

Stadium	Hautbefund
1	Makulo-papulöses Exanthem auf < 25 % der Körperoberfläche (KÖF).
2	Makulo-papulöses Exanthem auf 25 - 50 % d. KÖF
3	Makulo-papulöses Exanthem auf > 50 % d. KÖF oder generalisierte Erythodermie
4	Generalisierte Erythodermie mit Blasenbildung oder Desquamation

Tabelle E.4 Einteilung des Schweregrades der GvHD in der Leber in vier Stadien. *\* bei weiteren Ursachen einer Hyperbilirubinämie erfolgt eine Herabstufung des Stadiums um - 1 (Przepiorka et al. 1995).*

Stadium	Bilirubin in mg / dl*
1	2 - 3
2	> 3 - 6
3	> 6 - 15
4	> 15

<sup>1</sup><http://bloodref.com/transplant/gvhd/acute-gvhd-grade>; abgerufen: 2019-05-03.

Tabelle E.5 Einteilung des Schweregrades der GvHD am Darm in vier Stadien.

Stadium	Tägliches Stuhlvolumen
1	$> 30 \frac{ml}{kg}$ oder $> 500$ ml
2	$> 60 \frac{ml}{kg}$ oder $> 1000$ ml
3	$> 90 \frac{ml}{kg}$ oder $> 1500$ ml
4	$> 2000$ ml oder starker Bauchschmerz $\pm$ Ileus

# F Danksagung

Mein Dank gebührt allen Personen, deren direkte und indirekte Unterstützung ich bei dem Erstellen dieser Arbeit erfahren durfte. Allen voran sei hier Herrn Prof. Dr. Hans-Joachim Mentzel für die Überlassung des Themas, seine Betreuung und stetige Ermutigung in schwierigen Phasen gedankt. Und auch für seine große Geduld auf dem langen Weg bis zur Fertigstellung dieser Arbeit. Ohne seine Förderung (bzw. Forderung) wäre es sicherlich zu keinerlei Kongressbeitrag oder eingereichtem Artikel gekommen.

Herr Dr. Karim Kentouche danke ich für die umfassende Hilfe beim Sammeln der Parameter sowie der „Rettung“ aus den Untiefen der Datenarchive des UKJ<sup>1</sup>. Weiterhin Frau Ines Krumbein, die jederzeit für technische oder patienten-bezogene Fragestellungen am MRT bereit stand und Herrn Dr. Karl-Heinz Herrmann, für die geduldigen technischen Erklärungen und Anregungen.

Frau Dr. Mariana Nold und Frau Dr.-ing. Heike Hoyer des IMSID Jena<sup>2</sup> danke ich für die hilfreichen „Anstöße“ zur statistischen Auswertung.

Mein Dank gilt auch dem gesamten medizinischen Personal der Sektion für Kinderradiologie und der Hämatologie-Ambulanz des UKJ<sup>1</sup>, die mir immer unkompliziert einen Computerarbeitsplatz beschafften oder meine zahlreichen Anrufe „vermitteln mussten.“

Als „Außenstehender“ konnte Herr Dr. med. Jochen Leonhardi mir mit seiner hilfreichen Korrektur wertvolle Anregungen bei der Fertigstellung geben, wofür ich ihm herzlich danke.

Nicht zu vergessen sind diejenigen besonderen Personen, die mir im privaten Umfeld während der Arbeit Rückhalt und Kraft gaben und sich für mich einsetzten. Diese Promotion ist letztlich erst durch ihre stetige Motivation und dem geduldigen Ertragen meines Rückzugs zum Arbeiten möglich geworden.

---

<sup>1</sup>Universitätsklinikum Jena

<sup>2</sup>Institut für Medizinische Statistik, Informatik und Datenwissenschaften des UKJ



# G Tabellarischer Lebenslauf

*Vielen Dank für Ihr Verständnis, dass mein Lebenslauf in dieser online verfügbaren Version aus datenschutzrechtlichen Gründen nicht eingebunden ist.*

# H Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass

mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Herr Prof. Dr. med. Hans-Joachim Mentzel, Herr Dr. med. Karim Kentouche, Frau Ines Krumbein, Herr Dr. rer. nat. Karl-Heinz Herrmann, Frau Dr. Mariana Nold, Frau Dr. ing. Heike Hoyer, Herr Prof. Dr. rer. nat. med. habil. Jürgen Reichenbach,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde,

Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

*Jena, den 14. September 2020*

---

Ort, Datum

---

Georg Wurschi